

STUDIUL COMPOZIȚIEI ȘI STRUCTURII CALCULILOR RENO-URINARI PRIN METODE FIZICO-CHIMICE PERFORMANTE

Teză destinată obținerii
titlului științific de doctor
la

Universitatea "Politehnica" din Timișoara
în domeniul CHIMIE

chim. Georgeta - Sofia Popescu

Conducător științific:	prof.univ.dr.chim. Mircea Ștefănescu
Referenți științifici:	CPI.dr. Petru Budrugaec
	prof.univ.dr.ing. Ionel Ciucanu
	prof.univ.dr.ing. Francisc Peter

Ziua susținerii tezei: 18.11.2011

Seriile Teze de doctorat ale UPT sunt:

- | | |
|------------------------|---|
| 1. Automatică | 7. Inginerie Electronică și Telecomunicații |
| 2. Chimie | 8. Inginerie Industrială |
| 3. Energetică | 9. Inginerie Mecanică |
| 4. Ingineria Chimică | 10. Știința Calculatoarelor |
| 5. Inginerie Civilă | 11. Știința și Ingineria Materialelor |
| 6. Inginerie Electrică | |

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, 2011

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 a fost elaborată pe parcursul activității mele în cadrul Departamentului de Chimie Aplicată și Ingineria Compușilor Anorganici și a Mediului al Facultății de Chimie și Ingineria Mediului al Universității „Politehnica” și în cadrul Facultății de Tehnologia Produselor Alimentare a Universității de Științe Agricole și Medicină Veterinară din Timișoara în colaborare cu Spitalului Județean din Timișoara secția Urologie și cu Centru de Cercetare în Chimie “Raluca Ripan” din Cluj-Napoca.

Activitățile de cercetare științifică au fost realizate în cadrul colectivului de cercetare multidisciplinară condus de domnul prof.dr.chim. Mircea Ștefănescu.

Teza de doctorat se înscrie într-un domeniu de mare actualitate care se află la intersecția dintre chimie – biochimie, medicină și abordează una din problemele importante ale omului, urolitiaza – datorită incidenței sale destul de mari în rândul populației active, a numeroaselor recidive și a numărului mare de incapacitate temporară de muncă. Cercetările efectuate au fost motivate de necesitatea practică de cunoaștere exactă a compoziției chimice și structurii calculilor urinari - de mare importanță nu numai din cauza relației sale cu factori dietetici de sănătate ci și în prevenirea recidivării urolitiazii.

În urma cercetărilor efectuate s-au evidențiat o serie de elemente originale care au condus la interpretarea rezultatelor cât mai precise și complete privind compoziția calculilor reno-urinari.

Cercetările efectuate pot constitui un material util în laboratoarele clinice și chimice, rezultatele cunoscute de către medicul practician, cât și de cercetători având un impact direct asupra alegerii tratamentului, precum și în proiectarea și dezvoltarea a noi medicamente pentru tratamentul calculozei.

Problematika abordată nu poate fi considerată un capitol închis, teza de față deschizând perspectiva unor cercetări ulterioare atât grupului nostru de cercetare cât și celor interesați în domeniu.

Timișoara, noiembrie 2011

Chim. Georgeta-Sofia Popescu (Pintilie)

Acum la finalizarea acestei teze, care constituie temelia unor viitoare cercetări, doresc să exprim deosebite mulțumiri și sincera mea recunoștință domnului Prof.dr.chim. **Mircea Ștefănescu** pentru îndrumarea științifică de înaltă competență, încredere și sprijin acordat pe parcursul elaborării tezei.

Mulțumesc mai presus de orice părinților mei pentru sprijinul moral, material și încurajare, fiind alături de mine necondiționat, care au plâns și s-au bucurat împreună cu mine în fiecare clipă a existenței mele, precum și Bunului Dumnezeu care m-a ajutat să ajung să scriu această teză.

Aduc mulțumirile mele grupului de cercetare de la disciplina de Chimie Analitică Instrumentală a facultății de Chimie și Ingineria Mediului unde mi-am desfășurat o parte din activitate.

Mulțumesc doamnei CPI dr.ing. **Elisabeth Popovici** de la ICCRR din Cluj-Napoca pentru sprijinul acordat pe parcursul cercetării doctorale.

De asemena mulțumesc și domnului Prof.dr. **Petru Drăgan**, *in memoriam*, pentru sprijinul științific, practic și moral pe parcursul perioadei de colaborare.

Georgeta-Sofia, Popescu (Pintilie)

Studiul compoziției și structurii calculilor reno-urinari prin metode fizico-chimice performante

Teze de doctorat ale UPT, Seria 2, Nr. 16, Editura Politehnica, 2011, 174 pagini, 117 figuri, 24 tabele.

ISSN:1842-8444

ISBN:978-606-554-384-3

Cuvinte cheie: urolitiază, calculi reno-urinari, analiză termică, spectroscopie FT-IR, SEM, difractometrie de RX, spectrometrie de absorbție atomică, rețele neurale, derivata a II^a a spectrului FT-IR.

Rezumat,

Prin cercetările din cadrul tezei s-a propus efectuarea unui studiu complex experimental de analiză a compoziției și structurii unor calculi „sintetizați” natural la nivelul organismului uman. Studiul asupra determinării compoziției și structurii calculilor simpli și micști prin metode fizico-chimice performante (analiză termică, spectroscopie FT-IR, difractometrie de raze X) a condus la obținerea de informații precise și de acuratețe ridicată pentru diagnoza urolitiază. S-au urmărit și s-au confirmat limitele și performanțele fiecărei metode de analiză, iar prin coroborarea rezultatelor celor trei metode s-au obținut informații complete la identificarea și/sau dozarea atât a componentelor principale, cât și a unor impurități organice și/sau inerte din compoziția calculilor.

Cuprins

Introducere.....	7
Partea I.....	9
1. Biogeneza concremenelor litiace – particularizare pentru urolitiază	9
1.1. Noțiuni introductive	9
1.2. Biogeneza urolitiază	10
1.2.1. Evaluarea tipurilor de urolitiază.....	12
1.2.2. Manifestări clinice ale calculozei	15
1.2.3. Managementul medical al calculilor urinari.....	15
1.2.4. Impactul social și economic al urolitiazăi	16
1.3. Mecanisme specifice biogenezei uroconcremenelor.....	17
1.3.1. Patogeneza (factorii de risc)	17
1.3.2. Factori fizico-chimici.....	20
1.3.2.1. Saturația urinară	20
1.3.2.2. Promotori de cristalizare	22
1.3.2.3. Inhibitorii urolitiazăi.....	23
1.4. Mediul de formare al calculilor urinari – aparatul reno-urinar	24
2. Mecanisme biochimice specifice producerii litiacei oxalice	27
2.1. Considerații generale.....	27
2.2. Biomineralizarea: arta naturii!	30
2.3. Bioactivitatea oxalaților de calciu.....	31
2.3.1. Chimia cristalizării oxalaților de calciu și aspecte morfologice.....	31
2.3.2. Oxalat de calciu anhidru	33
2.4. Cristalogeneza oxalică – privire de ansamblu	35
2.4.1. Cristalizarea oxalaților de calciu	35
2.4.2. Suprasaturarea în oxalat de calciu	37
3. Investigarea compoziției calculilor renali	39
3.1. Investigarea metaboliților în urolitogeneză.....	39
3.2. Investigarea calculilor în laboratorul de chimie clinică	39
3.2.1. Examenul fizic al calculilor urinari.....	40
3.2.2. Analiza chimică calitativă și cantitativă	41
3.2.2.1. Identificarea principalilor anioni și compuși cu specific anionic	41
3.2.2.2. Identificarea principalilor cationi.....	42
3.3. Investigarea uroconcremenelor în chimia clinică	42
3.3.1. Metode clasice de analiză	42
4. Metode fizico-chimice performante utilizate în analiza calculilor	44
4.1. Considerații generale.....	44
4.2. Metode termice de analiza	47
4.2.1. Analiza termogravimetrică (ATG)	47
4.2.2. Analiza termogravimetrică derivată (DTG)	48
4.2.3. Factorii care afectează rezultatele obținute cu ajutorul metodelor termice studiate.....	49
4.3. Interpretarea cinetică a datelor de analiză termogravimetrică	49
4.3.1. Calculul parametrilor cinetici în regim neizoterm.....	51

4.3.1.1. Metode liniare izoconversionale.....	51
4.4. Spectroscopia în infraroșu cu transformare Fourier (FT-IR).....	52
4.5. Difractometria de raze X	53
4.6. Spectrometria de absorbție atomică.....	54
Partea II.....	55
1. Introducere	55
2. Metode experimentale.....	56
3. Evaluarea primară a calculilor.....	60
3.1. Evaluarea morfologică	60
3.2. Analiza chimică.....	65
3.2.1. Analiza chimică pe cale uscată	65
3.2.2. Analiza chimică pe cale umedă.....	66
4. Evaluarea compoziției și structurii calculilor prin metode fizico-chimice	69
4.1. Analiza termică.....	69
Concluzii	82
4.2. Cinetica descompunerii neizoterme a oxalatului de calciu monohidratat și a unor calculi reno-urinari de tip oxalat	83
4.2.1. Metode de analiză cinetică a datelor neizoterme	83
4.2.2. Calculul cinetic	89
4.2.2.1. Aplicarea metodelor izoconversionale FR și OFW	89
4.2.2.2. Aplicarea metodei regresiei neliniare pentru procesele de deshidratare.....	93
4.3. Analiza spectroscopică în infraroșu	98
Concluzii	113
4.4. Difractometria de raze X	114
Concluzii	128
4.5. Microscopie electronica de baleaj (SEM)	129
Concluzii.....	132
4.6. Determinarea compoziției metalice a calculilor renali prin spectrometria de absorbție atomică	133
4.7. Rețele neurale	138
4.7.1. Abordări bazate pe rețele neurale.....	138
4.7.2. Aplicarea rețelelor neurale în cazul calculilor reno-urinari	139
4.7.3 Topologia rețelei neurale.....	140
4.7.4. Metode statistice și de validare	141
4.7.5. Rezultate	141
Concluzii generale.....	145
Anexa 1.....	149
Anexa 2.....	151
Anexa 3.....	157
Bibliografie	158

INTRODUCERE

Urolitiaza prezintă una din problemele importante ale omului contemporan, datorită incidenței sale destul de mari în rândul populației active, a numeroaselor recidive, a numărului mare de incapacitate temporară de muncă. Nu ocolește nici pe copil nici pe bătrân. Face parte din grupul bolilor cu mare răspândire și cu un determinism plurifactorial, alături de hipertensiune arterială, ulcer gastroduodenal, diabet, obezitate ș.a.

Cunoașterea exactă a compoziției chimice și structurii calculilor urinari este de mare importanță nu numai din cauza relației sale cu factori dietetici de sănătate ci și în prevenirea recidivării urolitiazii. Acest obiectiv are un impact direct asupra alegerii tratamentului, precum și în proiectarea și dezvoltarea a noi medicamente pentru tratamentul calculozei urinare.

În abordarea litiazii reno-urinare, medicul practician este confruntat cu o problemă dificilă, justificată de limitele posibilităților terapeutice, ce au drept consecință recidivarea frecventă a bolii, datorită insuficienței cunoașterii a compoziției chimice și caracteristicilor structurale ale concrețiilor reno-urinare.

Rezolvarea acestei probleme se poate realiza prin metode complexe de studiu axate prioritar pe determinări fizico-chimice efectuate cu tehnici performante de analiză.

Prin cercetările din cadrul tezei ne-am propus efectuarea unui studiu complex experimental de analiză a compoziției și structurii unor calculi 'sintetizați' natural la nivelul organismului uman.

Teza este structurată în două părți: partea de literatură care cuprinde 4 subcapitole și partea experimentală care cuprinde 4 subcapitole, urmate de concluzii generale, referințe bibliografice și anexe.

Partea I prezintă un studiu detaliat de literatură privind biogeneza calculilor reno-urinari, mecanisme biochimice specifice producerii litiazii oxalice. Se prezintă, de asemenea, un studiu critic asupra metodelor chimice pe cale uscată și umedă, respectiv a metodelor fizice și fizico-chimice utilizate la caracterizarea compoziției calculilor renali raportate în literatură. Se prezintă o documentare asupra performanțelor metodelor de analiză fizico-chimică (analiza termică, spectroscopia în infraroșu, difractometria de raze X, spectrometria de absorbție atomică) utilizate în determinarea compoziției și structurii calculilor.

Partea II prezintă metode și procedee de selectare și clasificare a calculilor reno-urinari în funcție de natura acestora, din care se face o selecție, astfel încât să prezinte compoziții cât mai diversificate. Cei 18 calculi selectați sunt analizați prin metodele fizico-chimice selectate, urmărindu-se limitele și performanțele ale acestora la determinarea calitativă, cantitativă și structurală a acestora.

Sunt discutate rezultatele obținute prin fiecare metodă în parte și corelate între ele, în vederea stabilirii metodei ce oferă rezultatele cele mai performante sau asocierea acestora în funcție de complexitatea, natura și compoziția calculului.

8 Introducere

Se prezintă un studiu statistic privind prezența și conținutul unor metale în calculi, precum și un studiu de implementare a rețelelor neurale artificiale (ANN) privind predicția compoziției calculilor reno-urinari. În final se prezintă concluziile generale din care se scoate în evidență obiectivul și scopul urmărit în teză.

PARTEA I

CONSIDERAȚII GENERALE

1. Biogeneza concremențelor litiazice – particularizare pentru urolitiază

1.1. Noțiuni introductive

Litiază este o boală caracterizată prin prezența calculilor într-un anumit organ sau în canalul excretor al acestuia. Aproape orice organ cavităar și orice canal excretor (ex: căi urinare, biliare, pancreatice, etc.) sunt predispuse formării de microcristale litiazice care pot evolua spre litoconcremente. Litiază atinge mai ales rinichiul și căile urinare, vezicula biliară și căile biliare. Tulburările produse de prezența acestor calculi cu localizări diferite în organism și dispuse izolat într-un singur loc sau concomitent în mai multe organe poartă denumirea de "boală litiazică".

În funcție de aparatul sau sistemul în care este localizată, se deosebesc: litiază aparatului reno-urinar, litiază biliară, litiază pancreatică, litiază intestinală, litiază salivară (sialolitiază), litiază tonsilară – decelată la nivelul amigdalei.

Litiază reno-urinară (urolitiază) se întâlnește la nivelul aparatului reno-urinar cu diverse localizări pe tractul acestuia, fiind împărțită în: litiază renală, litiază ureterală, litiază vezicală, litiază uretrală și litiază prostatică.

Litiază urinară este o afecțiune caracterizată prin formarea de uroconcremente sau calculi urinari în interiorul tractului urinar, în urma precipitării sau coprecipitării unor substanțe, care în mod normal, se găsesc dizolvate în urină.

Litiază cistică poate fi localizată preponderent la nivel renal și al căilor urinare. De asemenea mai este posibil să apară la nivelul mușchilor sub formă de microcristale. La originea acestei litiază se află o enzimopatie (boală enzimatică) care nu permite metabolizarea cistinei.

Litiază biliară este localizată la nivelul vezicii biliare în care se colectează secreția hepatică. Calculii care se formează în vezica biliară, pot migra în căile excretorii biliare care se reunesc pentru a forma canalul coledoc. Compoziția acestor litiază este dominată de colesterol și diverse metale. Factorii care favorizează apariția acestui tip de litiază sunt: ereditatea, vârsta, sarcinile multiple, obezitatea, diabetul, unele medicamente (contraceptive, hipolipemiante). Femeile suferă mult mai frecvent de litiază biliară decât bărbații. Cele mai multe litiază biliare nu provoacă nici un simptom. Calculii vezicali pot fi de asemenea sursa unor complicații

precum colecistita acută (inflamația veziculei), colica hepatică (durere intensă prin blocarea unui calcul în canalul coledoc), angicolita (inflamație gravă a coledocului).

Litiiza salivară se poate manifesta la toate cele trei glande salivare mari (parotidă, submaxilară, sublinguală), dar în special la cea submaxilară (submandibulară). În cavitatea bucală se găsesc glande salivare mari – ca formațiuni anatomice distincte – și glande salivare mici – sub forma unor minuscule formațiuni nodulare răspândite în submucoasa bucală, prezente în zona buzelor, obrazilor, la nivelul boltei palatine și al limbii (glande parietale).

În organele glandulare sau parenchimatose la care s-au evidențiat litiiza și microlitiiza (glandele salivare, pancreas, gonade, tiroidă, ș.a.), concrețiunile sunt alcătuite predilect din fosfat sau carbonat de calciu. În unele cazuri apare și oxalat pentru faptul că membranele celulare sunt permeabile la oxalat.

1.2. Biogeneza urolitiaziei

Calculii renali l-au chinuit pe om de-a lungul secolelor. Primul calcul renal a fost descoperit de către Elliot Smith, la mumia unui adolescent de 16 ani din Egiptul Antic, și a prezentat o compoziție mixtă (acid uric în nucleu și fosfat de calciu în startul periferic) [1,2]. Astăzi, se estimează că aproximativ 5% din populația lumii occidentale are format cel puțin un calcul până la vârsta de 70 de ani, din cauza căruia poate suferi la un anumit moment al vieții [3-5]. Vârsta medie a pacienților este între 45 și 50 de ani iar aproximativ 60-70% din aceștia sunt bărbați [6,7]. În cazul populației americane, pietrele sunt chiar de trei sau patru ori mai frecvente la bărbați decât la femei [6]. În țările vestice, procentul populației care este afectată anual de această boală este de aproximativ 0,5%. Incidența anuală a pacienților care se prezintă la spital manifestând colică renală este în jur de 0,1%-0,2% din populație [8, 9]. La 1% dintre pacienții cu calculoză renală cursul bolii este asimptomatică. Calculii urinari, sau pietrele renale, pot apărea în diferite părți ale tractului urinar, precum rinichiul, pelvisul renal, ureterul sau vezica urinară. În 80% din toate cazurile, calculii urinari parcurg spontan tractul urinar, dacă piatra are un diametru mai mic decât 8 mm. Calculii de vezică sunt extrem de răspândiți în Asia. De asemenea, acest tip de calculi este actualmente frecvent în anumite zone din Turcia, Iran, India, China, Indochina și Indonezia, din cauza malnutriției în primii ani ai vieții. Totuși, pe măsură ce condițiile sociale s-au îmbunătățit treptat, incidența lor a scăzut. La începutul secolului XX și mai târziu, calculii de vezică erau de asemenea relativ frecvenți în Europa, dar pe parcursul ultimilor 100 de ani s-a înregistrat o descreștere treptată a incidenței acestora, pe când calculii tractului renal superior au devenit mai des întâlniți. Această tendință, definită ca „stone wave” (valul calculilor), a fost justificată pe baza condițiilor sociale și a schimbărilor care au rezultat la nivelul obiceiurilor alimentare (mai multe grăsimi și alimente de origine animală). În Europa, America de Nord, Australia, Japonia și mai recent Arabia Saudită, afluența lor s-a răspândit în toate clasele sociale și, împreună cu ea, tendința de a consuma în cantități mari mâncăruri „bogate” [10]. Pentru aceste societăți prospere, rinichiul este cel mai comun loc al calculilor în tractul urinar, estimat la 58% din totalul cazurilor [11]. Pietrele care își au originea în rinichi pot traversa fără simptome ureterul, dar cel mai adesea această traversare este însoțită de dureri puternice și sângerări. Pietrele din porțiunea distală a ureterului sau din vezică produc frecvență, urgență și disurie care pot fi confundate cu infecții ale tractului urinar.

Urolitiiza are o prevalență la populația din Spania de 4,16% și o incidență

anuală estimată de 0,27%, afectând 4,5% din bărbați și 3,8% din femei [12]. Se estimează că 12% din populația Uniunii Europene va suferi de-a lungul întregii vieți cel puțin un proces legat de urolitiază [13], astfel încât riscul de formare a unui calcul pentru o persoană de vârstă medie este estimat la 20 % pentru bărbați și 5-10% pentru femei [14].

În România, o statistică generală privind apariția urolitiazii, tipul acesteia și repartizarea geografică pe județe și provincii isorice nu a mai fost făcută din anul 1971 [15]. Conform acestui studiu, cele mai afectate județe au fost Caraș-Severin, Timiș, Arad, Brașov și București, cu o morbiditate de 241 sau mai mare la o populație de 100 000 locuitori.

În timpul prelevării calculilor, cu scopul realizării acestei teze, în perioada anilor 2003-2010, din totalul celor internați la secția de Urologie a Spitalului Județean din Timișoara un procent de aproximativ 30% au fost cazuri de calculoză renală (intervenții chirurgicale clasice, litotritție ș.a).

Calculii urinari sunt depozite cristaline cunoscute sub numele de pietre la rinichi sau uroliti sau chiar uroconcremente, care apar în sistemul urinar. Prezența acestora provoacă disconfort individual sever și durere, și poate duce la insuficiență renală dacă sunt netratați. Formarea lor nu este pe deplin înțeleasă, deși au fost indicați o serie de factori de risc precum dieta, vârsta, sexul, genetica și anumite patologii [16, 17].

Formarea de calculi în tractul urinar, incluzând vezica urinară, ureterele, uretra și rinichii (așa cum se arată schematic în figura 1.1), afectează 5 - 10% din populație în lumea occidentală. Boala apare mai frecvent la populația albă, și rata de apariție este de 2 - 3 ori mai mare la bărbați decât la femei. Recurența calculozii urolitiactice, este foarte comună, cu o rată de aproximativ 50% și este în creștere [17].

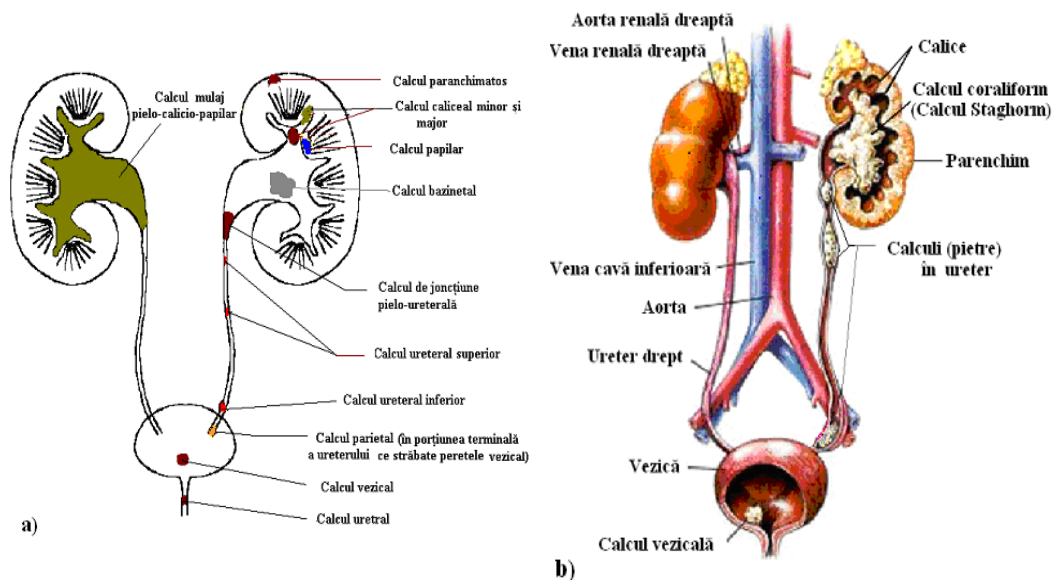


Fig. 1.1. a) Localizarea calculilor în tractul reno-urinar; b) Prezentarea componentelor principale ale sistemului urinar uman și zonele potențiale formării de calcul

În prezent, o serie de factori epidemiologici recunoscuți favorizează

formarea de pietre urinare (Tabel 1.1) individ-dependente (ereditate, rasă, vârstă, sex, etc.). Acești factori sunt factorii de mediu (factori dietetici și aportul de lichide, factori sezonieri, climatici, distribuția geografică, ocupația și statutul socio-economic, etc.) [18].

Tabel 1.1. Markerii și factorii de risc ai litiazei renale

Markerii de risc	
<i>Vârsta</i>	Prevalența maximă a bolii între al treilea și al cincilea deceniu de viață
<i>Sex</i>	La nivel global, piatra afectează predominant bărbații. La femei predomină pietrele cauzate de infecții sau defecte metabolice asociate: cistinurie sau hiperparatiroidism.
<i>Rasă</i>	Asiaticii, sirienii și indienii par să aibă o predispoziție mai mare la boli, spre deosebire de negri, probabil din cauza inhibitorilor de cristalizare din urină sau a hipovitaminozei D.
<i>Moștenire genetică</i>	Prezintă un rol important în litiaza urică, xantinică, cistinică și, în unele cazuri de litiază renală secundară de calciu acidoză tubulară renală și hipercalciurie ereditară familială.
Factorii de risc	
<i>Dietă</i>	Poate favoriza eliminarea în urină atât a substanțelor litogenice, cât și a inhibitorilor de cristalizare.
<i>Aportul de fluide/lichide</i>	Aportul pe cale orală de lichide conduce la diluarea osmotică extracelulară care produce o diluție urinară și scade precipitarea cristalină la persoanele predispuse formării de calculi/pietre. În schimb, diureza scăzută este considerată ca fiind unul dintre factorii de risc cei mai importanți în litogeneză. Conținutul de minerale din apă ar putea contribui la formarea de pietre la pacienții predispuși.
<i>Factorii climatici și sezonieri</i>	Creșterea temperaturii atmosferice determină pierderea de apă, debit scăzut de urină, iar creșterea concentrației soluției urinare, favorizând boala litiazică. Manifestările clinice ale acesteia apar mai frecvent în timpul verii.
<i>Distribuția geografică</i>	Se pare că distribuția geografică se suprapune cu factorii de mediu, dietetici și socio-economici. Urolitiază este frecventă în Statele Unite ale Americii, Europa Centrală, țările mediteraneene, Pakistan, India și China, în contrast cu America Centrală, America de Sud și cele mai multe din Africa.
<i>Statutul socio-economic și profesional</i>	Un nivel socio-economic ridicat presupune o frecvență mai mare de diete bogate în proteine animale, zahăr, ceea ce duce la prezența crescută de oxalati, urați și calciu în urină, crescând riscul litogenic. Stresul este considerat un factor de risc pentru litiaza oxalocalcică. Sectoarele cele mai marginalizate, precum și țările subdezvoltate, au o predominanță la pietre infecțioase.

1.2.1. Evaluarea tipurilor de urolitiază

În literatura de specialitate pentru formațiunile calculoase apărute în cadrul aparatului reno-urinar există diverse terminologii precum: nefrolitiază, litiaza renală, urolitiază, litiaza urinară. Uroconcremențele (uroliții) se formează în urma precipitării sau coprecipitării substanțelor care în mod normal se află solubilizate în urină.

În cazul acestor litiaze se formează uroconcremente cu compoziție unică- așa numitele *urolitiază simple (unare)* sau cu compoziție complexă în care se pot include două sau trei substanțe așa numitele *urolitiază mixte*. Între litiazele simple

mai frecvent întâlnite sunt litiaza urică, oxalică, fosfatică și cistică. Litiazele mixte se întâlnesc adesea sub formă de: urați-oxalați, oxalați-fosfați, oxalați-cistină.

Urolitiazele se pot clasifica după mai multe criterii:

a) În funcție de **criteriul etiologic** litiaza este grupată în următoarele tipuri:

- Litiaza de organism – cauzată de diverse tulburări metabolice, care determină excreția în cantitate anormală a sărurilor litogene în urină. Cele mai reprezentative tulburări metabolice sunt: tulburări în metabolismul calciului, acidului uric, xantinei, cistinei, oxalaților, fosfaților și evident tulburări ale metabolismului hidroelectrolitic.

- Litiaza de organ – calculul este consecință a unor leziuni dobândite ale rinichiului sau la nivelul aparatului reno-urinar, care sunt însoțite de anomalii la nivelul căilor urinare excretoare: staze, infecții, leziuni diverse, obstrucție, prezența unui corp străin sau a unor modificări anatomice congenitale. Calculul poate să apară pe o singură parte și să recidiveze de aceeași parte.

În apariția litiazei urinare un rol important îl au și cauzele de ordin local, interesând tractul reno-urinar. Printre cauzele locale figurează anomaliile morfologice ale aparatului urinar, congenitale sau dobândite, care, creând un obstacol în calea evacuării normale a urinei, determină staza urinară.

b) **Criteriul chimic** – deosebește următoarele tipuri de litiază:

- *Litiaza acidă* apare în condițiile unui pH acid scăzut ($\text{pH} \leq 6,5$): calculi urici, calculi de cistină;

- *Litiaza alcalină* este consecința unui pH urinar mai ridicat ($\text{pH} > 7$): calculi fosfatici, carbonatici;

- *Litiaza mixtă* apare atât în urina ușor acidă, cât și în cea alcalină: calculi oxalici.

c) **Criteriul morfo-structural** (menționat în lucrările de specialitate clasice) grupează litiazele după aspectul morfologic al calculilor în: calculi cu structură amorfă, calculi cu structură cristalină. De fapt, calculii amorfi propriu-ziși nu există, deoarece la examenele spectrografice aceștia prezintă proprietățile optice ale cristalozilor, iar la examenul cu raze X fenomenul difracției.

d) **Criteriul de compoziție**, permite distincția următoarelor tipuri: calculi oxalici (cu oxalat de calciu); calculi fosfatici (cu fosfat de calciu, fosfați micști de calciu și potasiu, calciu și magneziu, magneziu și amoniu); calculi din acid uric și urați (urat de amoniu sau de sodiu). Foarte rar pot fi găsiți calculi de cistină, xantină, carbonat de calciu, colesterol. În tabelul 1.2 sunt prezentate tipurile de compuși întâlniți în calculii renali.

În cadrul aceluiași criteriu de clasificare se pot diferenția, pornind de la specificul organic sau anorganic al constituenților două tipuri de calculi:

- **calculi organici** – din această categorie fac parte: calculii urici, uratici, cistinei și xantinei.

- **calculi anorganici** – calculi de oxalat, fosfat, carbonat ș.a.

Tabel 1.2. Clasificarea compușilor aflați în uroconcremente

Clasa	Denumire chimică	Denumire mineralogică	Formulă moleculară	Masa molară g/mol
Oxalat (Ox)	Oxalat de calciu monohidrat	Whewellite	$\text{Ca}(\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	146,1
	Oxalat de calciu dihidrat	Wheddellit	$\text{Ca}(\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	164,1
	Oxalat de calciu trihidrat		$\text{Ca}(\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	182,1
	Oxalat de fier dihidrat	Humboldtin	$\text{Fe}(\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	180,1

14 Bigeneza concremenelor litiazice - 1

Fosfați	Monohidrogenfosfat de calciu dihidrat	Brushite	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	172
	Dihidrogenfosfat de calciu monohidrat		$\text{Ca H}_2 \text{ PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	155
	Fosfat tricalcic	Whitlokit	$\text{Ca}_3 (\text{PO}_4)_2$	310
	Monohidrogenfosfat de calciu	Monetit	CaHPO_4	136
	Carbonat apatita	Dahlit	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4 \text{ CO}_3)_6 (\text{OH CO}_3)_2$ $\text{Ca}_5 (\text{PO}_4 \text{ CO}_3)_3 (\text{OH CO}_3)$	1484 742
	Hidroxiapatita		$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3 (\text{OH})$	440
	Octacalciu fosfat pentahidrat		$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	635
	Fosfat de magneziu și amoniu hexahidrat	Struvite	$\text{MgNH}_4 \text{ PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	245
	Fosfat de magneziu și amoniu monohidrat	Dittmarit	$\text{Mg}_2(\text{NH}_4)_2(\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	257
	Trimagneziufosfat octahidrat	Bobberit	$\text{Mg}_3\text{PO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$	311
Carbonați	Carbonat de calciu	Calcite	Ca CO_3	100
	Carbonat de calciu monohidrat	Mono-hidroxicalcite	$\text{Ca CO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$	118
Organici	Acid uric	Uricit	$\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$	168.1
	Acid uric dihidrat	-	$\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	204.1
	Urat acid de amoniu	-	$\text{C}_5\text{H}_7\text{N}_5\text{O}_3$	185.1
	Urat acid de sodiu monohidrat	-	$\text{NaC}_5\text{H}_3\text{N}_4\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$	208.1
	Urat acid de potasiu monohidrat	-	$\text{KC}_5\text{H}_3\text{N}_4\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$	224
	Urat monocalcic	-	$\text{CaC}_{10}\text{H}_6\text{N}_8\text{O}_6$	374.3
	L-cistină	-	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2$	240.8
	Xantină	-	$\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_4\text{O}_2$	153
	2,8-dihidroxiadenină	-	$\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_2$	152
Colesterol				

e) După localizare, calculii pot fi grupați în: calculi parenchimoși formați în țesutul parenchim; calculi papilari – la nivelul papilelor; calculi caliceali – la nivelul calicelor renale; calculi bazinetali – în bazinetul renal; calculi ureterali – în ureterele care conduc urina de la rinichi la vezica urinară; calculi vezicali – în vezică; calculi uretrali – în uretră (Fig. 1.1).

Locul de formare a calcului și sediul în care se găsește în momentul descoperirii sale, de cele mai multe ori nu sunt identice. Un microcalcul format în tubii colectorii din papilele renale poate deveni pe rând calcul bazinetal, ureteral, vezical și uretral. Circa 95% din toți calculii se descoperă în sistemul pielo – caliceal și în ureter. În general pentru fiecare caz în parte se evaluează dacă sunt șanse de eliminare spontană, dacă sunt recomandate medicamente solubilizante sau dacă este necesară intervenția chirurgicală. Din studierea dimensiunii, formei și gradului de opacitate radiologică a calcului se obțin date importante care pot fi valorificate în stabilirea concretă a tratamentului.

f) După gradul de opacitate radiologică, calculii pot fi grupați în: calculi parenchimoși, calculi papilari și calculii caliceali [19].

1.2.2. Manifestări clinice ale calculozei

Simptomele clasice ale unei colici renale acute sunt durerile violente localizate între bazin și ultima coastă care se răspândesc în jos și anterior către mușchii ipsilaterali și organele genitale. Colica renală este de asemenea frecvent însoțită de greață și vomă, deoarece durerea este extrem de intensă. Pacienții sunt foarte des neliniștiți, răsucindu-se de pe o parte pe alta în tentativa zadarnică de a găsi o poziție comodă [3, 6]. Existența unui calcul la nivelul tractului urinar poate fi determinată prin multiplele manifestări clinice [20, 21]:

Litiiza asimptomatică (calcul latent). Calculul latent este foarte mic, imobil, încapsulat în calice, sau foarte mare mulând cavitățile, fixat prin dimensiunile lui. Prezența unui calcul caliceal, pelic chiar ureteral, se manifestă într-un mod silentios, fără simptome clinice sau biologice.

Litiiza oligosimptomatică. Existența unui calcul situat într-un caliciu, pelvis renal sau diverticul caliceal este evidențiată prin simptome de mică intensitate, dureri ușoare, disconfort sau înțepături. Acestea sunt, de obicei, dureri lombare cronice, care pot fi diminuate sau chiar dispar prin odihnă și care pot fi redeclanșate prin activitate fizică intensă, mers pe jos și chiar stat în picioare.

Colica renală. Manifestarea cea mai comună a pietrei urinare este durerea, cunoscută sub denumirea de colică renală acută. Durerea variază de la un caz la altul în funcție de locație, mărime, suprafață, precum și de mobilitatea calculului, zona de impact și modificările mecanice sau dinamice ale fluxului urinar ce cauzează suprapresiune și disfuncții ale tractului urinar.

Colica renală septică. Atunci când o colică renală cauzată de un calcul de obstrucție a tractului urinar este complicată de colonizare de germeni în urină reținuți în segmentul de deasupra acestei obstrucții, această colică renală fiind cunoscută sub numele de septică. Caracteristica clinică a acesteia o reprezintă febra și disfuncțiile, în principal, hemodinamice, hematologice și metabolice. Infecția urinară datorată obstrucției este una dintre complicațiile cele mai grave ale litiizei datorită repercusiunilor ce determină o agresiune distructivă asupra funcției renale și a parenchimului renal.

De multe ori, existența pietrelor urinare este anunțată printr-o colică ureterală. Scopul principal al tratamentului de colici este eliminarea calculului și determină efectele acesteia asupra rinichilor și tractului urinar. Trebuie să se țină cont și de faptul că, atunci când forma și mărimea (mai puțin de 3 mm în diametru) sunt favorabile tratării unui calcul conservator și simptomatic, se poate acționa spre expulzarea lui, care potrivit statisticilor variază între 60 - 90% din cazuri [13]. Acest tratament terapeutic încearcă calmarea durerii și facilitarea trecerii calculului urinar, prin utilizarea de analgezice (meperidină, morfină, metamizolului, ș.a.), antispasmodice, antiinflamatoare (ibuprofen, diclofenac ș.a.), măsuri, cum ar fi tratamentul hiperdiuretic pentru a promova progresia de hidratare forțată și utilizând medicamente diuretice, precum și măsuri generale, cum ar fi repaus la pat, aplicarea de căldură în zona dureroasă. În alte cazuri, pentru eliminarea calculilor se apelează la litofragmentarea urologică prin intermediul undelor de șoc extracorporale, proceduri chirurgicale, ureteroscopie sau intervenții chirurgicale convenționale.

1.2.3. Managementul medical al calculilor urinari

În majoritatea cazurilor, calculii se dizolvă în timp și cu lichide, și astfel pot dispărea de la sine. Totuși pacienții cu pietre având diametre mai mari de 6 mm, au

de cele mai multe ori nevoie de ajutor. În trecut, calculii urinari puteau fi îndepărtați doar prin intervenție chirurgicală asupra rinichiului, pelvisului renal sau ureterului. În zilele noastre, sunt valabile și metode alternative. Pietrele pot fi fragmentate in situ prin expunerea acestora la litotripsie/ litotriție, prin unde de șoc extracorporal (ESWL). Pacientul este afundat într-o baie cu apă, după care undele sonore de energii înalte sunt focalizate la centrul calculului prin intermediul unui reflector parabolic. Ulterior, pietrele sunt fragmentate cu ajutorul convertorilor/traductorilor de energie laser, electromagnetici sau electrohidraulici. În acest mod, majoritatea calculilor sunt transformați în pudră care traversează ureterul către vezică. O a doua metodă este litotripsia ultrasonică percutanată, în cadrul căreia un instrument în formă de citoscop este introdus în pelvisul renal, unde un traductor ultrasonic distruge pietrele. Fragmentele sunt direct eliminate prin spălare. O cea de-a treia metodă este ureterosopia, prin care un instrument în formă de citoscop este introdus prin vezică spre ureter [3, 6].

Profilaxia rațională a pietrelor este importantă, în special în toate cazurile de recidivă. Întotdeauna ar trebui să se ofere pacienților cu calculi tratament de prevenire, fie că este nevoie sau nu de tratament medicamentos sau dietă. Tratamentul tradițional include întotdeauna administrarea unei mari cantități de lichid (cel puțin 3 L pe zi) pentru a asigura un minim al volumului de urină de 2 l pe zi, independent de compoziția calculului urinar [22]. Compoziția pietrei, precum și frecvența și nivelul de gravitate al formării acesteia determină tipul de tratament adițional, care poate consta în recomandări de dietă sau medicație. Multe studii interesante sunt disponibile cu privire la nutriție, cum ar fi efectul apei minerale franțuzești care conține calciu și magneziu [23]. Una din constatările remarcabile recente ale unei noi cercetări asupra calculilor urinari este faptul că există posibilitatea ca restricția calciului prin regim alimentar să fie nocivă în prevenția formării acestora și că de fapt această restricție pare să înrăutățească situația [6].

1.2.4. Impactul social și economic al urolitiazii

Frecvența ridicată a urolitiazii, faptul că, de obicei, manifestă criza colică renală și impactul acesteia asupra funcției renale, face ca aceasta boala să fie una dintre cele mai importante în cadrul urologiei, cu mari implicații sociale și economice. O altă problemă a pietrelor renale este tendința lor de a recidiva. Rata de recidivare este de aproximativ 50% în 10 ani, și 75% în 25 de ani [9]. Aceste implicații grave ale litiazii urinare cauzează costuri socio-economice ridicate, ceea ce justifică investigarea apariției și prevenției recidivelor. Așadar, s-a investit mult efort în cercetarea calculilor renali, cuprinzând un număr mare de aspecte precum etiologia sau patogeneza pietrelor, baza fizico-chimică a formării lor, factorii de risc, epidemiologia și dieta, sau tratamentele medicale ale acestora [24]. Totuși, în ciuda studiilor intense, informațiile legate de patogeneza pietrelor – care reprezintă baza oricărei metafilaxii raționale a calculilor au rămas insuficiente. Formarea pietrelor la majoritatea pacienților este probabil provocată de o coincidență a diversilor factori de mediu și genetici.

În ceea ce privește rezoluția urolitiazii, acest lucru se intampla spontan cu expulzarea calculului, în 70-75% din cazuri, în timp ce restul de 25-30% necesită o intervenție urologică [25]. Indiferent de forma lor de soluționare, reapariția unui nou calcul poate avea loc în procente de 50% într-o perioadă de 5 ani, 60% în 8 ani și până la 70% pentru perioade mai lungi de timp [26, 27]. Acest lucru se datorează faptului că, în majoritatea cazurilor, în ciuda eliminării calculului, persistența modificării urinare provoacă formarea lor. În termeni economici, urolitiazia

generează costuri ridicate [28] pentru pacienții care necesită îngrijiri medicale repetate.

1.3. Mecanisme specifice biogenezei uroconcrementelor

1.3.1. Patogeneza (factorii de risc)

Calculii renali apar de obicei din cauza dereglării unui echilibru fragil din organismul uman. Pe de o parte, rinichiul trebuie să păstreze apă, iar pe de altă parte trebuie să excrete resturile și substanțele cu solubilitate scăzută. Aceste două cerințe opuse trebuie să fie echilibrate în timpul adaptării la o anumită combinație de dietă, climat și activitate. Echilibrul este schimbat într-o oarecare măsură prin faptul că urina conține substanțe care inhibă cristalizarea sărurilor, și altele care leagă ionii în complecși solubili. Aceste mecanisme de protecție totuși nu au caracter absolut. Când urina devine suprasaturată cu substanțe/materiale insolubile, de exemplu din cauza unei combinații dintre o rată de excreție excesivă și o conservare excesivă de apă, cristalele se formează, cresc și se grupează unele cu altele ducând la formarea unui calcul [3]. Pe lângă inhibitorii puternici, urina umană conține și un număr ridicat de promotori (albumina, globuline, substanțe de tip matrice A). În tabelul 1.3 este prezentată o listă de promotori, inhibitori și alți factori care predispun la risc [29, 30]. Factorul de risc predominant este hidratarea scăzută. Cel puțin aceasta, explică parțial incidența ridicată a formării calculilor renali în zonele cu climat cald. În general etiologia formării pietrelor cuprinde factori genetici, factori de mediu precum cauzele de dietă (de exemplu hiperuricozuria) sau infecția tractului urinar. Componentul cel mai frecvent al calculilor este cationul de calciu, produs de hipercalciuria idiopatică – care probabil are origine generică și se întâlnește în 50-55% din toate pietrele [3, 30]. Tabelul 1.3. Promotori (activatori), inhibitori și factori care favorizează formarea calculilor [29]

Tipuri de factori		Exemplificare
Promotori		Albumine Globuline Substanța matriceală A
Inhibitori		Mg, Citrat, Pirofosfat. Glicoproteina Tamm Horsfall, ARN
Factori de predispoziție la formarea de calculi	Preurinari	Istorie familială, Climat cald, Stres, Scăderea aportului de fluidelor, Dietă bogată în proteine, Imobilizare
	Urinari	Creșterea concentrației urinare de: Ca ⁺⁺ , urat, oxalat, pH. Scăderea: volumului, Mg ⁺⁺ , citratului urinar
	Metabolici	Hipoparatiroidism primar, acidoză tubulară de tip I, Hiperoxaluria ereditară, boala Cushing, Cistinuria
	Infecție bacteriană	Infecția Proteus

Încă de mult, analiza chimică stabilise că orice calcul se compune dintr-un schelet organic reprezentat de mucoproteine, mucopolizaharide și glicoproteine – denumit matrice și din substanțe minerale (cristaloide) cum ar fi: acidul uric, uratul de amoniu, uratul de sodiu, xantina. Aceste două feluri de materiale sunt prezente întotdeauna în urină, unde se găsesc dizolvate într-o stare de echilibru. Modificarea acestei stări face ca substanțele amintite să precipite și astfel apar calculii. Natura calculilor variază în funcție de natura acestor substanțe minerale. Substanțele minerale se depun sub formă de cristale pe scheletul organic, de care se leagă mai mult sau mai puțin strâns.

Există astăzi – tinând cont de cele două componente ale unui calcul (matricea glicoproteică și cristalele) – două ipoteze patogenetice acceptate, dar care nu pot explica în totalitate particularitățile litogenezei [31-34]. Ipotezele emise sunt: a) Ipoteze care descriu formarea calculilor urinari printr-un proces intracelular; b) Ipoteze conform cărora formarea calculilor urinari este în esență un fenomen extracelular, producându-se integral în lumenul tractului urinar. În cadrul acestui grup, asupra mecanismului intim al formării calculilor s-au elaborat trei teorii: teoria cristalizării, teoria coloidală, teoria matricei organice.

Teoria cristalizării sărurilor, are la baza explicații mineralogice – arată că precipitarea sărurilor în urină este supusă legilor fizico-chimice ale procesului de cristalizare. Ținând seama de aceste legi, o sare se dizolvă în lichide până la o anumită limită de saturație, astfel încât produsul concentrațiilor de anioni și cationi reprezintă o constantă numită produs de solubilizare. Soluția este considerată suprasaturată când ionii sunt în concentrația cea mai mare, respectând produsul de solubilizare. Calculoza urinară s-ar datora precipitării sărurilor urinare sub formă cristalină în urina suprasaturată. Propensitatea de cristalizare (C_p) ca o expresie a tendinței de cristalizare este definită de relația [35]:

$$C_p = \frac{(Ca^{++})(Mg^{++})(aciduric)(oxalat)(cistina)(ortofosfat)(inf ectia)}{(Mg^{++})(K^+)(citrata)(pirofosfat)}$$

în care concentrația ionică a constituenților este redată parantetic. Factorii de la numărătorul fracției favorizează cristalizarea, iar factorii de la numitor inhibă cristalizarea.

La originea calculului se găsește un „nucleu de cristalizare”, care se transformă în microcristal și la suprafața căruia precipită substanțe organice. Prin unirea unui număr mare de germeni de cristalizare dispuși radial, ia naștere un „sferolit”, care prin apozitii succesive de cristale și substanțe organice, poate ajunge la dimensiuni de câțiva centimetri. Acesta este microconcrementul litiazic.

În urina suprasaturată, precipită cristalele unor săruri și formează nucleul de cristalizare. După formarea acestora se constituie un centru de atracție și pentru precipitarea altor săruri, însă de aceeași formă cristalografică. În procesul de formare al acestui nucleu de cristalizare s-a observat că, la început, dispar axele cristalografice ale cristalelor și, ulterior, dispar caracteristicile acestora, realizând așa-numitele „cristale de nucleație heterogenă”.

Teoria coloidală cunoscută și sub denumirea de „teoria corpusculului coloidal” arată că la originea calculului urinar stă un „corpuscul coloidal”, care atrage în jurul său cristaloizii cărora le-a provocat precipitarea. Creșterea mai departe a calculului se face prin depunerea de noi straturi alternative de coloizi și cristaloizi ceea ce conduce la o structură concentrică. Activitatea coloizilor de protecție nu se

limitează numai la menținerea cristaloizilor în stare de soluție. Aceasta se întinde și asupra coloizilor labili ai urinii.

Teoria matricei organice. Calculii urinari prezintă o compoziție de cristale foarte variată, dar toți calculii de orice fel au un miez (nucleu) constituit dintr-o matrice de glicoproteine. În mod normal, proporția greutatei matricei față de componenții cristalini ai calculilor este mică, fiind de 2,5% într-un grup de 264 calculi micști examinați [36]. Compoziția biochimică a calculilor matriceali relevă compoziția matricei calculilor care tinde să fie relativ constantă. Din punct de vedere chimic, matricea este un complex de glicoproteine (care conțin glucide și polipeptide). Macromoleculele identificate ca pietre urinare sunt prezentate în tabelul 1.4.

Tabel 1.4. Macromoleculele identificate în pietrele reno-urinare [37]

Natura macromoleculelor	Exemple de macromolecule
Proteine	Albumina, α -1-acidglicoproteine, α - și γ -globuline, α -1-antitripsina, Apolipoproteina A1, β -2-microglobulina, Hemoglobulina, Inter- γ -inhibitor, Uropontim, Retinol legat de proteine, Superoxid-dismutaza, Proteina Tamm-Horsfall, Transferina
Glicozaminoglicani	Heparan-sulfat, Acid hialuronic
Lipide	Fosfolipide, colesterol, glicolipide
Molecule mici	Pirofosfat

În accepția teoriei matricei organice a fost acreditată ideea existenței interacției matricii organice (de natură glicoproteică) cu compuși cristaloizi dizolvați în urină, care în final precipită [38].

Dintre teoriile care încearcă să explice formarea calculilor, două sunt acceptate și anume: aceea a cristalizării, care susține formarea părții anorganice, matricea formându-se pasiv prin precipitare și teoria coloidală, care susține că precipitarea matricii unui calcul din substanțele organice este procesul primar, iar cristalizarea sărurilor în jurul acesteia secundar. Formarea unui cristal și creșterea acestuia în urină este un proces complex, dinamic, influențat de mai mulți factori, cum se reflectă în diferitele teorii litogenice existente [18, 21]: teoria suprasaturației, teoria nucleației matriceale, teoria în absența inhibitorilor, teoria epitaxiei și inductorilor ș.a.

Pentru formarea unui calcul urinar, funcția renală ar trebui să permită eliminarea de cantități excesive de specii chimice, în stare fizică de saturație la un pH potrivit pentru a permite cristalizarea, favorizat de prezența anumitor promotori de cristalizare și lipsa absolută sau relativă de inhibitori ale precipitării și agregării cristalelor. Evident, masa cristalină formată trebuie să rămână la nivelul tractului urinar o perioadă suficientă pentru a ajunge la o dimensiune care previne expulzarea spontană asimptomatică a acesteia.

Există, de obicei, un echilibru între factorii dependenți de compoziția urinară (suprasaturare, promotori și inhibitori), precum și factorii morfoanatomici menționați, modul/calea prin care nu se formează calculii renali. Acest lucru se poate întâmpla, de exemplu în acele cazuri în care se manifestă o concentrație anormal de mare de compuși litogenici în urină (hipercalcemie, hiperoxalurie, hiperuricozurie) sau aceasta prezintă un deficit semnificativ de inhibitori (hipomagneziurie, hipocitraturie, hipofiticurie).

1.3.2. Factori fizico-chimici

Baza fizico-chimică a formării calculilor este în principal suprasaturarea. Dacă o soluție este în echilibru cu cristalele, de exemplu, de oxalat de calciu, produsul activităților chimice ale ionilor pozitivi de calciu și ale ionilor negativi de oxalat se numește produs de solubilitate de/la echilibru. Dacă cristalele sunt înlăturate și apoi se adaugă în soluție fie calciu fie oxalat, activitatea produsului de solubilitate la echilibru va crește, dar soluția rămâne limpede. O astfel de soluție este considerată suprasaturată metastabil. În mod alternativ, dacă se adaugă noi cristale de oxalat de calciu, cristalele vor crește în dimensiune (nucleație, formare a germenilor de cristalizare). În cazul în care se atinge un punct critic, numit limita superioară de metastabilitate, faza solidă începe să se dezvolte spontan [3].

Nucleația este un factor fizico-chimic în formarea calculilor, reprezentând fenomenul prin care starea de suprasaturare, metastabilă, poate fi ușor dezechilibrată prin introducerea de cristale din aceeași substanță cu care este suprasaturată urina, inducând cristalizarea întregii soluții. Dacă urina este suprasaturată, cristalele formează în mod normal grupări (clusteri) instabile. Totuși, formațiunile alcătuite din cel puțin 100 de cristale pot rămâne stabile deoarece forțele de atracție echilibrează pierderile de suprafață. Aceste formațiuni, numite nuclei, pot crea o fază solidă permanentă dacă urina este frecvent suprasaturată. În cazul în care urina suprasaturată este însământată cu nuclei continuând cristale cu aceeași structură, putem vorbi despre nucleație omogenă, pe când însământarea urinei suprasaturate cu nuclei străini este numită nucleație heterogenă. Cristalele de urat acid de sodiu, acid uric și hidroxilapatită acționează deseori ca nuclei heterogeni care permit pietrelor din oxalat de calciu să se formeze chiar dacă oxalatul de calciu urinar nu depășește niciodată limita metastabilă. Inhibitorii menționați anterior (Tabel 1.3) încetinesc creșterea cristalelor și nucleația fosfatului de calciu și a oxalatului de calciu [3]. Calculii din struvită, cistină și acid uric ajung adesea la dimensiuni prea mari pentru a mai putea traversa ureterul. Aceste pietre umplu treptat pelvisul renal formând calculi „staghorn” (coraliformi). Calculii cu conținut de calciu se dezvoltă adesea în papilele urinare, iar unii dintre ei se dezlipesc și produc colica renală.

1.3.2.1. Saturația urinară

Urina reprezintă un amestec al produșilor metabolici finali care coexistă în soluție, într-un echilibru relativ stabil în anumite limite de pH. Dezechilibrul sau excesul anumitor substanțe chimice în urină este cunoscut prin declanșarea precipitării și creșterii precipitatelor, având ca rezultat formarea a ceea ce este cunoscut cu numele de calcul primar.

Saturația unei substanțe ionizabile, S , este definită ca fiind raportul dintre produsul activității ionice în soluție și a produsului său solubilitate termodinamică. Produsul a solubilității termodinamice stabilește că, în anumite condiții de temperatură și putere ionică, concentrațiile termodinamice limită a ionilor care formează substanța ionizabilă în soluție sunt acelea care corespund fazei de echilibru între această soluție (soluție saturată) și componenții insolubili. Astfel, o soluție saturată ($S = 1$) este stabilă pe termen nelimitat, și anume, solutul nu are tendința de a cristaliza iar particulele solide de solvat în contact cu soluția saturată nu tind să se dizolve. În schimb, o soluție suprasaturată conține în exces soluția de mai sus cu solubilitatea termodinamică ($S > 1$) și, prin urmare, vor avea tendința să precipite pentru a ajunge la o stare de echilibru nou.

Chiar dacă, suprasaturația urinei indică dacă procesul de cristalizare este posibil, nu există nici o relație directă cu viteza acestuia. În fapt, soluțiile supersaturate sunt cunoscute prin faptul că nu duc la formarea de cristale datorită limitărilor semnificative cu privire la cristalizarea de origine cinetică. Pentru a explica mecanismul de formare a unui cristal, trebuie să recurgem la cinetica chimică, mai degrabă decât la aspectele termodinamice [39]. Acest fapt demonstrează că verificarea simultană a trei specii într-o soluție este extrem de improbabilă, astfel că un cristal alcătuit din mii de unități, este puțin probabil să fie format simultan de aceleași specii. Astfel, teoria actuală cu privire la formarea de cristale admite că acestea sunt formate prin trei etape distincte: nucleația, creșterea cristalelor și agregarea cristalelor.

Având în vedere această viziune a cineticii de cristalizare, urina, comparativ cu concentrația de substanțe care sunt eliminate prin aceasta, poate fi clasificată în trei tipuri: hiposaturată, metastabilă și hipersaturată (Figura 1.2), în funcție de solubilitatea substanței, pH-ul, temperatura, prezența complexării /chelatării și forța ionică a mediului [40].

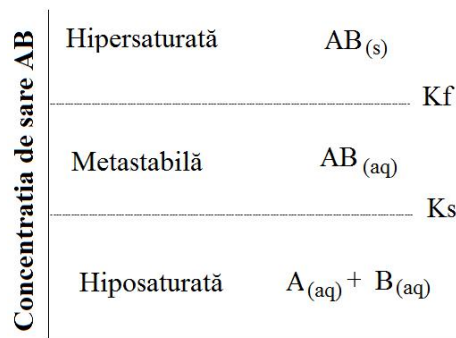


Figura 1.2. Schema generală a stărilor posibile de saturație urinară

În cazul în care concentrația unui compus insolubil AB este mai mare decât produsul său de formare (K_f , înțelesă ca un produs de solubilitate condiționat de formarea spontană a solidului) este declarat a fi o soluție hipersaturată. În această situație, soluția devine instabilă și are loc nucleația spontană a sării insolubile, precum și creșterea și agregarea cristalelor. În schimb, în cazul în care concentrația de AB este mai mică decât produsul de solubilitate termodinamică (K_s), soluția este subsaturată, și rămâne stabilă. În situațiile în care concentrația AB are valoarea cuprinsă între K_f și K_s , soluția se numește metastabilă. În această soluție, având în vedere starea de suprasaturație, nu se produce spontan formarea de cristale AB, însă pot avea loc procese eterogene de nucleație (formarea de cristale peste alte componente prezente în urină) și o creștere a cristalelor în funcție de prezența speciilor promotoare și inhibitoare de cristalizare.

Suprasaturația urinară este, fără îndoială, un factor necesar în cazul procesului de nucleație, creștere și agregare a cristalelor, astfel aceasta este forța motrice a procesului de cristalizare. Cu toate acestea, nu este o condiție suficientă deoarece urina este o soluție suprasaturată și în cazul subiecților sănătoși [41]. Pentru aceasta trebuie să adăugăm că pare să existe o relație directă între nivelurile de suprasaturație și predispoziția la formarea de pietre la rinichi (cu excepția cazurilor de suprasaturație extreme cauzate de exemplu de hipercalcemie sau

hiperoxalurie la unele persoane), indicând existența unui alt set de componente care au tendința de a accelera (promotorii) sau a încetini (inhibitori) procesul urolitogenezic [42].

Astfel, urina este suprasaturată litogenic uneori pentru unii componenți, și în mod continuu pentru alte substanțe, cum ar fi oxalatul de calciu, acidul uric, fosfații de calciu. De obicei, când concentrațiile speciilor urinare sunt depășite duce la formarea unică ale produselor acestor săruri (Tabel 1.5) [43], astfel că presiunea este necesară atât pentru activarea promotorilor cât și pentru dezactivarea sau scăderea acțiunii inhibitoare în procesul de formare a cristalelor corespunzătoare.

Tabelul 1.5. Produse de solubilitate și formarea de diferite săruri calculogenezice

	-log Ks	-log Kf
Oxalat de calciu [41]	8.70	7.55
Hidroxiapatită [42]	55.96	-
Brushite [42]	6.70	5.70
Acid uric dihidrat [42]	8.64	-

O investigație asupra factorilor de risc fizico-chimici în cazul calculozelor renale în timpul gravidității s-a realizat prin studierea a 17 paciente aflate în al treilea trimestru de graviditate și perioada postnatală în scopul evaluării efectului gravidității asupra factorilor de risc fizico-chimici în cazul calculozelor renale. S-au determinat nivelele ale saturației urinare pentru oxalatul de calciu, acid uric, și urat monosodic și excrețiile urinare de elemente formatoare de calculi. În plus față de excrețiile de calciu urinar, evaluarea metabolismului calciului a inclus calciul seric și hormonul paratiroidian. Excreția calciului urinar a fost de 251 mg/zi în timpul gravidității și 121 mg/zi în perioada postnatală. Acesta a fost asociat cu ingestia mai mare a calciului în dietă și modificarea eliminării renale a calciului, cu o creștere a filtrării calciului și o scădere a reabsorbției tubulare renale. Creșterea calciului urinar a avut ca rezultat creșterea nivelului de saturație a urinei în oxalat de calciu 3,0 mg/zi în perioada de graviditate și 2,1 mg/zi în perioada postnatală date compatibile cu o creștere a factorilor de risc în formarea calculilor [44, 45].

1.3.2.2. Promotorii de cristalizare

Promotorii de cristalizare sunt substanțe chimice cu caracteristici diferite (materie organică sub formă de resturi celulare, agregate de proteine, macromolecule, medicamente, sau materiale cristaline), care au capacitatea de a se combina cu anumite componente cristaline insolubile din căile urinare, măbind capacitatea de precipitare a acestora, prin formarea unui complex stabil slab solubil (cu o dimensiune mai mare decât cea critică). Acesta din urmă previne precipitarea fazei insolubile, chiar dacă suprasaturația urinei este prea mare.

De obicei, acești promotorii acționează ca nucleatori eterogeni și se completează până la dispozitive structurale pe care sunt depozitate substanțe insolubile cristaline, care alcătuiesc cea mai mare parte din piatra renală. Activatori de nucleație sunt constituiți din mucoproteine urinare litogenetică [46] focarele locale de necroză sub forma de placa [47] (placa Randall) și fenomenul de epitaxie [48].

Mecanismul de acțiune al mucoproteinelor urinare litogenetice se caracterizează prin interacțiunea cu fosfat și/sau calciu [48, 50], ceea ce duce la polimerizarea acestor mucoproteine, sporind astfel masa moleculară și scăzând solubilitatea acestora. Particulele de mucoproteine polimerizate pot fi considerate ca

sferulite de fosfat de calciu. Aceste sferulite pot apoi promova interacțiunea cu mai mult fosfat sau oxalat, și în cele din urmă duc la formarea necleilor calculigenezici. Calcificarea componentelor organice sau microleziunilor, de obicei, situate la nivelul papilei renale duc la formarea unor focare locale de necroză, sub formă de plăci, responsabile pentru compilarea nucleului litogenic [51].

În cazul fenomenelor de epitaxie, acestea sunt produse de interacțiunea a două sau mai multe substanțe cu caracteristici diferite dar care coincid și se suprapun în rețea. Locul de interacțiune al rețelelor depinde de intensitatea de similitudine a acestora. Fenomenele de epitaxie sau de creștere a cristalelor peste alte rețele similare sunt prezente în abundență între oxalat de calciu monohidrat și dihidrat, fosfat de calciu și oxalat de calciu monohidrat și acid uric și oxalat de calciu monohidrat, în funcție de intensitatea și gradul de suprasaturare.

La rândul lor, există, de asemenea, declanșatori ale stării de agregare. Trebuie să se țină cont că prezența materiei organice în urină (de la resturi bacteriene și/ sau inflamatorii) favorizează agregarea particulelor cristaline prezente în urină. Fenomenele de epitaxie pot juca, de asemenea, un rol similar cu cel al materiei organice în procesul de agregare. În plus, efectul pH-ului urinar favorizează agregarea acidului uric atunci când acesta este scăzut și intensifică agregarea de hidroxiapatita atunci când acesta este ridicat.

1.3.2.3. Inhibitorii urolitiazici

Inhibitorii urolitiazici [52, 53] sunt o serie de substanțe organice și anorganice întâlniți în urină, care permit concentrații mari de specii chimice din căile urinare capabile de a cristaliza în soluție, acționând fie pe suprafața cristalului (intervenind în locurile active de creștere ale cristalului) sau care formează complexi mai solubili care se unesc cu substanțele deja cristalizate.

Factorii inhibitori ai procesului de cristalizare au fost semnalati în urina normală prin prezența unor substanțe chimice cu acțiune antililitiazică, care se opun procesului de cristalizare. Insuficiența acestora favorizează formarea calculului, independent de prezența unui nucleu de cristalizare. În continuare se menționează unele date despre factorii antililitiazici (factori inhibitori de cristalizare):

1) *Substanțe chelatoare de proveniență endogenă.* Printre acestea se întâlnesc următoarele: a) citratul, excretat normal în urină formează un complex chimic de calcul, făcându-l inactiv; b) magneziul are acțiune chelatoare și solubilizantă asupra oxalaților; c) produșii acidului salicilic (aspirina și salicilamida) eliminându-se prin urină sub formă de acid glucuronic, favorizează solubilitatea fosfatului și carbonatului de calciu și împiedică astfel precipitarea acestora sub formă de cristale; d) compuși cu aluminiu (hidroxid sau carbonat bazic de aluminiu), administrați pe cale orală, produc scăderea fosfatului. Aceștia împreună cu fosfatul de calciu, formează fosfat de aluminiu insolubil, care nu se poate absorbi prin mucoasa intestinală, eliminându-se pe cale digestivă; e) wolframatul de sodiu cu acțiune inhibitoare în litiaza urică. Se știe că xantinoxidaza (enzimă care transformă xantina în acid uric) conține în molecula sa molibden. Aceasta din urmă poate fi captat de wolframul de sodiu, ducând la inactivarea xantinoxidazei;

2) *Substanțe inhibitoare ale cristalizării.* În această grupă de compuși se includ coloizii de protecție. În urină există două tipuri de coloizi numiți: a) coloizi fiziologici, liofili, care au o activitate coloidală crescută și se găsesc în cantități mici în anumite stări fiziologice în care litiaza urinară nu se produce (sarcină); b) coloizi patologici, liofoli, care își pierd capacitatea protectoare contribuind la formarea calculilor. Coloizii fiziologici sunt coloizii de protecție – au menirea de a menține în stare de soluție cristaloizii din urină.

3) Existența unei *activități de inhibiție a mineralizării* în urina normală. În urina normală există inhibitori ai mineralizării, care nu se găsesc în aceea a bolnavilor de litiază renală. Un inhibitor de acest tip este pirofosfatul anorganic care inhibă in vitro formarea cristalelor de oxalat, de fosfat și a carbapatitei. S-a observat că pirofosfatul din urină, în mod normal este de 0,5 – 8,0 mg % și scade foarte mult la bolnavii de litiază oxalică și fosfatică.

4) *Alți inhibitori ai cristalizării*. Sunt predilect compușii de proveniență exogenă între aceștia se menționează ionul de potasiu, care intră în competiție cu cationii bivalenți și îi menține în forme dissociate, precum și tirocalcitonina. De asemenea oligoelementele (zincul, manganul, cobaltul și cadmiul) au acțiune inhibantă asupra procesului de cristalizare [54].

1.4. Mediul de formare al calculilor urinari – aparatul reno-urinar

Excreția, prin definiție, este procesul de eliminare a substanțelor neutilizate de organism. Principialul aparat de excreție este aparatul reno-urinar – format din rinichi și căile urinare. Prin intermediul aparatului reno-urinar se elimină în mediul extern urina, care conține substanțe preluate din plasmă, "deșeuri" ale metabolismului intermediar sau substanțe a căror concentrație plasmatică este menținută constantă pe această cale [55]. Rinichiul are rol esențial în homeostazia biochimică, electrolică, osmotică acidobazică și chiar volemică [56]. Pe lângă funcția de excreție, rinichiul are rol endocrin, secretând substanțe hormonale speciale, cum sunt renina, endropoetina, prostaglandine sau 1-25-dihidroxicoliciferol, rezultat din vitamina D₃ (care intervine în absorbția calciului) [57]. Organele reno-urinare (sunt reprezentate de: doi rinichi; calicile mici, calicile mari, pelvisul renal, două uretere – conducte prin care urina este transportată de la rinichi la vezică; vezica urinară, un rezervor în care se depozitează în mod temporar urina; uretra, un conduct ce pleacă de la vezică și prin care urina este eliminată la exterior [55, 58].

În exterior rinichiul posedă o *capsulă fibroasă*, sub care se află *parenchimul renal*, acesta, la rândul lui, este format dintr-o substanță periferică, numită *corticală* și o substanță profundă, numită *medulară*. Sistemul de tubi din rinichi este constituit din două segmente, care diferă ca origine ontogenetică, structură morfologică și semnificație morfofuncțională. Aceste segmente sunt: a) nefronul, și b) ductele colectoare (tubii colectori).

Nefronul este unitatea morfologică și funcțională a rinichiului, realizând toate funcțiile complexe care au ca rezultat formarea urinei. Cei doi rinichi, la adult, conțin în medie 2,5 milioane de nefroni (cu variație între 1,9 milioane și 3,6 milioane). Nefronii nu sunt uniți între ei, ci reprezintă unități structurale independente. Nefronul, este o formațiune secretorie a rinichiului, are o lungime de 30 – 50 mm, fiind alcătuit din două porțiuni: *corpusculul renal* (glomerul,) și *tubul renal* cu structură și calibre diferite în diferitele sale segmente (tubul proximal).

Prezentarea anatomică generală a aparatului renourinar este importantă pentru înțelegerea aspectelor fiziologice și fiziopatologice – în speță a proceselor de urolitogeneză. În unele cazuri malformațiile de la nivelul aparatului reno-urinar sunt incriminate ca și cauze ale stopării excreției renale și a proceselor de litogeneză. De

asemenea este important a cunoaște aspectele anatomice pentru a înțelege localizările predilecte a uroconcrementelor la nivelul rinichiului – ca și organ excretor, dar, uneori și la nivelul căilor de eliminare a urinei.

Teoria modernă a formării urinei a fost formulată în 1917 de Cushing [56, 57]. În accepția acestei teorii formarea urinei are loc prin filtrare glomerulară, reabsorbție tubulară și secreție tubulară selective, procese care asigură individualizarea eliminării diferitelor substanțe. Filtratul glomerular are în linii generale aceeași compoziție ca și plasma, exceptând proteinele plasmatice. Acest fapt dovedește natura fizică a procesului. Se filtrează totuși și o cantitate foarte mică de proteine.

Rinichiul exercită în organism o serie de funcții importante, exențiale pentru menținerea vieții [59]:

a) Funcția de excreție. Rinichiul reprezintă principala emonctor al organismului. La nivelul rinichiului se "elaborează" urina, extrăgând din sânge și eliminând cu ajutorul apei principalele produși ai catabolismului, cât și substanțele străine, inutile și toxice.

b) Funcția de menținere a echilibrului osmotic (izoosmia) cu toate consecințele fiziologice ale acestei homeostazii.

c) Funcția de menținere a echilibrului acido-bazic (izoionia), reflectată prin pH-ul sanguin, care variază în limite foarte strânse.

d) Funcții metabolice specifice țesutului renal - evidențierea acestor funcții este greoaie, deoarece, până în prezent, nu sunt puse la punct tehnici speciale abordabile în laboratorul clinic.

Elaborarea urinei "definitive" se face prin prelucrarea filtratului glomerular în tubii renali, prin procese simultane sau succesive de reabsorbție și secreție.

Reabsorbția (transportul) tubulară este procesul prin care sunt recuperate anumite substanțe utile organismului din ultrafiltratul glomerular, menținându-se astfel homeostazia biochimică la nivel plasmatic. Procesul este selectiv, în sensul că se realizează maximal pentru fiecare substanță într-un anumit segment tubular prin acțiunea unor mecanisme celulare specifice, fiind condiționat de debitul substanței respective și de necesitățile organismului [56].

Transportul activ se realizează în contragradient de concentrație cu implicații electro-chimice, necesitând un consum de energie furnizată prin hidroliza ATP. Mecanismele de transport activ au o capacitate limitată pe unitatea de timp și intervin în reabsorbția glucozei, a anumitor aminoacizi, acidului uric, unor vitamine (B₁₂, C), fosfaților anorganici, sulfaților, precum și a principalilor ioni ai ultrafiltratului (Na⁺, Cl⁻, HCO₃⁻ etc.) [57].

Transportul pasiv are loc fără consum de energie – se poate realiza fie prin debit maxim (mișcarea întregii soluții metastabile antrenând și compuși dizolvați), fie prin difuziune și osmoză (guvernați de legi fizice și, astfel, dependente de gradientele osmotice și de concentrație). Transportul pasiv se face sub acțiunea unor gradientele fizico-chimice, nu necesită consum energetic, nu este limitat de o capacitate maximă și contribuie la reabsorbția a trei constituenți principali ai ultrafiltratului: apa, ureea și clorul. Reabsorbția se face la două niveluri distincte: a) la nivelul tubului proximal – unde are loc reabsorbția obligatorie (totală sau parțială) și b) la nivelul tubului distal – are loc o reabsorbție facultativă.

Există două tipuri de substanțe care se pot reabsorbi: *i*) substanțe cu rol deosebit pentru organism, e.g. glucoza, clorul, sodiul, calciul, magneziul, bicarbonații și altele; *ii*) substanțe rezultate din metabolismul celular se reabsorb doar parțial. Sunt eliminate prin urină, imediat ce apar în sânge (e.g. ureea,

amoniacul, acidul uric, creatină, sulfatii și altele), nu au prag de eliminare, deoarece concentrația lor urinară are o valoare mult mai mare decât cea sanguină [59].

Secreția tubulară este procesul invers celui de absorbție, se realizează transportul anumitor substanțe din capilarele peritubulare în lumenul tubului. Are rolul de a elimina atât substanțele străine organismului, cât și substanțele prezente obișnuit în sânge (potasiu, acid uric etc.), unele numai când se află în concentrații mari (creatinină). Se realizează prin transport activ și pasiv, motiv pentru care se utilizează și termenii de secreție activă și secreție pasivă [60].

Compoziția urinei comparativ cu plasma. Prin compararea compoziției urinei cu plasma se observă rolul rinichiului în eliminarea componentilor plasmatici. Există deosebiri importante între compoziția urinei și cea a plasmei.

Plasma sanguină are un conținut de 90% apă, iar urina de 95%. Substanțele importante pentru nutriție (e.g. glucoza și proteinele) lipsesc din urină. Aminoacizii se găsesc în cantitate mică.

Prin metode clasice, glucoza poate fi decelată doar când concentrația plasmatică a acesteia depășește valorile normale. Astfel, urina este o substanță cu prag de eliminare ridicat. Electroliții, cationii (Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Mg^{++}) și anioni (Cl^- , CO_3H^- , PO_4H^-), sunt substanțe care se elimină prin urină în funcție de concentrația plasmatică care îi caracterizează. Dintre acestea fosfatul anorganic este o substanță cu prag de eliminare, deoarece nu apare în urină când concentrația plasmatică este sub o anumită limită. În urina finală, CO_3H^- nu există decât în cazul în care concentrația plasmatică este excesivă, aceasta nu se datorează pragului de eliminare ridicat, și faptului că se descompune în tubii uriniferi în CO_2 și H_2O [56, 58].

În urină, în concentrații mult mai mari decât în plasmă, se găsesc deșeurile metabolice – reprezentate de compuși azotați neproteici (ureea, acidul uric, creatina ș.a.), care sunt eliminate ca substanțe inutile și toxice.

2. Mecanisme biochimice specifice producerii litiazei oxalice

2.1. Considerații generale

În natură, oxalatul este des întâlnit – la bacterii, mucegaiuri, plante animale și om – ceea ce dovedește că metabolismul său este unic la întreaga materie vie. În funcție de natura materiei vii, diferă destinația finală a oxalatului: la microorganisme este eliberat în mediul de cultură, la plante este depozitat, iar animalele și omul elimină oxalatul pe cale reno-urinară, prin urină.

Date asupra metabolismului oxalatului au fost obținute pe organisme simple (bacterii, ciuperci) care sunt mai accesibile cercetărilor. Deoarece, reacțiile biochimice ale sintezei oxalatului la microorganisme și plante sunt identice și/sau aproape identice cu reacțiile organismul animal, datele obținute privitor la metabolismul oxalatului la aceste organisme au fost extrapolate la organismul uman [61, 62]. Microorganismele din intestinul uman și animal pot sintetiza oxalat, care contribuie la rezervele de oxalat din organism.

În mare parte oxalatul de natură exogenă – din alimentația omului, provine de la microorganisme și plante. În lichidele biologice și țesuturile din organismul omului și animalelor, anionul oxalat provine atât din surse endogene cât și surse exogene. Alimentele de origine vegetală și animală constituie sursele exogene. Acidul oxalic rezultat prin biosinteză la nivelul tubului digestiv (de unde este absorbit în organism), cât și în țesuturile diferitelor organe reprezintă sursele endogene [63].

Acidul oxalic este un produs non-esențial al metabolismului uman. Aproximativ 100% din ^{14}C -oxalat administrat poate fi regăsit în urina de la 36 de ore. Acidul oxalic este un acid dicarboxilic relativ puternic cu pK_a cuprinsă între 1,46 – 4,40 [64]. Importanța acestui compus cât și a oxalatului, în special a oxalatului de calciu este datorată solubilității scăzute a acestora.

Depunerea sărurilor de oxalat de calciu sub formă de cristale este facilitată de o urină concentrată (diureză scăzută), mai ales în condițiile unui pH urinar alcalin.

S-a observat că magneziul are un rol important în solubilizarea oxalaților urinari, precum și o acțiune de inhibiție a absorbției intestinale de calciu. De aici și concluzia practică de a crește aportul de magneziu prin alimente bogate în acest ion (germeni de cereale, leguminoase, zarzavaturi verzi), având în vedere să nu se depășească, în acest fel, aportul de calciu [65].

Se cunosc numeroase căi de formare a oxalaților. În organism, acidul oxalic este produs prin biosinteză la nivelul țesuturilor (în urma unor procese metabolice intermediare), dar se poate forma și în urma biosintezei ce are la bază microorganisme de la nivelul tubului digestiv

Cercetările din ultima vreme au arătat că litiaza oxalică se întâlnește cu o frecvență destul de mare, de obicei sub formă simplă cu oxalat de calciu sau mixtă cu oxalat și fosfat de calciu [66-68]. Aceasta poate apărea ca o tulburare interdependentă sau în cadrul oxalozei, o tulburare genetică a unor aminoacizi, care

are drept consecință creșterea sintezei de acid oxalic și precipitarea cristalelor de oxalați în țesuturi.

Unele tulburări metabolice sunt asociate cu excreția urinară crescută a oxalatului; printre acestea sunt și rarele boli moștenite, hiperoxaluria primară, și mai recent recunoscute asociații ale hiperoxaluriei cu forme de tulburări intestinale. Toxicologia acidului oxalic și a compușilor care pot fi convertiți la acid oxalic în corp au prezentat o atracție considerabilă.

Localizarea preponderentă a litiazei oxalice este la nivel renal și în tractul reno-urinar, dar poate fi localizată, foarte rar, în bilă, intestin și canalele pancreatice.

Originea acidului oxalic este dublă: exogenă și endogenă. Originea exogenă – alimentară – se datorează așa numitelor „alimente oxalofore”, cum sunt: legumele, cacao, ciocolata, ceaiul etc. Din alimente din care se produce acidul oxalic în tubul digestiv, prin fermentație, numite oxaligene cum sunt glucidele, precum și prin acțiunea parazitozelor intestinale care produc fermentații intestinale [69]. Doar în jur de 15% oxalatul urinar este derivat din dietă, diferența până la 100% provine din metabolismul endogen.

Sursele alimentare de acid oxalic sunt, mai ales de origine vegetală. Sunt bogate în acest acid: cacao, spanac, măcriș, ceai, piper, rădăcina de țelină, rubarbă, sfecla, smochine, pătrunjel, coacăze, etc. [70]. Pentru un tratament adecvat este important de știut cât timp calciul și oxalatul împart același mecanism de absorbție în intestin; reducerea calciului dietetic va servi doar la creșterea oxalatului urinar datorită absorbției intestinale crescute [71].

Alimentele care conțin cantități neînsemnate de acid oxalic sunt: carnea, peștele, laptele și derivatele sale, oul, grăsimile, cerealele, făinoasele, unele legume (castraveții, ridichile, conopida, mazărea) sau fructe (pepelele, merele, cireșele).

Din acidul oxalic endogen aproximativ o treime este provenit din acid ascorbic, o treime din glicerină și restul din hidroxiprolină, fenilalanină, tirozină, triptofan și alte surse minore [31, 32].

În alimentele de origine vegetală se găsesc cele mai importante cantități de oxalat. În așa numitele „*alimente oxalifere*”: spanac, măcriș, rubarbă, ceai, cafea, cacao, sfeclă, pătrunjel, fasole albă și verde ș.a. S-au decelat cantități mai mici se găsesc în fructe, carne, lapte și derivate (Tabel 2.1).

Tabel 2.1. Conținutul de oxalați în câteva produse alimentare [72]

Alimente	Oxalat mg/100g	alimente	Oxalat mg/100g
Fructe		Legume	
Zmeură neagră	53.0**	Asparagus	5.2
Caise	2.8	Mazăre verde fiartă	15.0*
Mere crude	3.0	Mazăre în sos tomat	19.0*
Visine acre	1.1	Sfeclă roșie fiartă	675.0**
Coacăze roșii	19.0*	Sfeclă roșie murată	500.0**
Salată de fructe conservată	12.0*	Morcovi	4.0
Struguri	25.0*	Conopidă fiartă	1.0
Lemon coajă de lămâie	83.0**	Țelină	20.0*
Portocale crude	4.0	Cereale și produse din cereale	
Piersici	1.2	Pâine albă	4.9
Pere	3.0	Prăjitură cu fructe	11.8*
Ananas conservat	1.0	Spaghetti fierte	1.5
Prune	10.0*	Fulgi de porumb	2.0

Dulceață de prune roșii	0.5	Biscuiți de soia	207.0**
Dulceață de căpșuni	9.4*	Tăieței cu ouă	1.0
Prunes, Italian	5.8*	Macaroane fierte	1.0
Rhubarba conservată	600.0**	Omletă	1.0
Rhubarba - tocană fără zahăr	860.0**	Germeți de grâu	269.0**
<i>Alimente de origine animală</i>			
Lapte	0.15	Pește, Haddock	0.2
Friptură de carne de porc	1.7	Pește, Plaice	0.3
Șuncă prăjită	3.3	Pește, Sardines	4.8
Jambon	1.6	Liver	7.1*

* = nivel de oxalat notabil; ** = nivel foarte înalt de oxalat

De asemenea, pot conține cantități mari de oxalat alimentele obținute prin fermentarea dirijată sau spontană, ex: brânzeturile, băuturile. În acest ultim caz oxalații iau naștere prin biosinteza microbiologică sau enzimelor elaborate de ciuperci (*Aspergillus*, *Penicilium*) sau levuri.

Perturbările metabolismului oxalatului se manifestă, în special, prin exces de producție și depozitare și mai rar prin deficit de sinteză. Deficitul de producere, caracterizat prin hipooxalemie și hipooxalurie, se întâlnește foarte rar în practică și nu are implicații medicale. Hipooxaluria și hiperoxaluria sunt consecința directă ale hipooxalemiei și hiperoxalemiei, deoarece oxalatul – înainte de a fi excretat în urină – trebuie să depășească o anumită concentrație maximă sanguină.

Hiperoxaluria poate fi endogenă sau exogenă. Sursele endogene sunt căile metabolice ale glioxilatului și acidului ascorbic. Excesul de oxalat este absorbit prin celulele afectate ale peretelui intestinal. Acești pacienți pot tolera foarte puține legume în dieta lor. Tratamentul conține carbonat de calciu, care se va combina cu oxalatul în intestin și îl va face nedisponibil pentru absorbție. Catabolismul oxalatului pentru mai multe produse finale solubile poate fi facilitat cu ajutorul dozelor de vitamina B₆ [72, 73]. Cristalele de oxalat de calciu odată formate nu se redizolvă repede *in vitro*. Catabolismul ascorbatului în oxalat *in vitro* este inhibat prin prezența acidului [74-77].

Deficiența de vitamina B₆ (piridoxină) este o altă cauză a hiperoxaluriei. Metabolismul vitaminei B₆ pare să fie disturbată de un substrat al formatorilor de calciu de oxalat de calciu cu hiperoxalurie blândă [78,79]. Determinarea 5'-piridoxal-fosfat din ser (metabolit activat de vitamina B₆) și acid 4 piridoxic urinar poate inhiba metabolismul vitaminei B₆ la pacienții cu hiperoxalurie.

Hiperoxaluria primară - este o boală genetică congenitală. Datorită unor deficiențe enzimatică ale metabolismului intermediar, se sintetizează oxalat în cantități excesive, care apoi este eliminat pe cale urinară.

Oxalemia (oxalatul sanguin) variază cu alimentația, în general, la 100 mL plasmă se găsește 1- 4 mg oxalat. Menținerea la o valoare relativ constantă a oxalemiei este posibilă grație mecanismelor de excreție renală. Oxalatul trece în circulația sanguină sub formă de săruri solubile, complexate fizico-chimic cu ioni organici (citrati) sau anorganici (magneziu) precum și legate de proteinele plasmatică.

Oxaluria reprezintă excreția renală a oxalatului. Oxalatul, la mamifere și om, este un produs metabolic final care nu se poate metaboliza până la dioxid de carbon și apă și din acest motiv este excretat prin căile urinare. Eliminarea oxalatului, prin urină, se face sub formă de săruri solubile de Na⁺, K⁺, NH₄⁺. Ionul

oxalat, în căile urinare, se poate combina cu sărurile de calciu eliminându-se sub formă de cristale insolubile de oxalat de calciu. Cercetările efectuate au dus la concluzia că mecanismul de transport renal al oxalatului este comun cu a altor acizi organici, și constă din: filtrare glomerulară, reabsorbție tubulară prin difuziune pasivă și secreția activă în tubii proximali [62].

Mecanismul litiazei urinare oxalice nu este pe deplin elucidat, deoarece în etiopatologia urolitiază oxalice sunt numeroase variabile cunoscute dar nici una luată separat nu este esențială pentru inițierea și creșterea calculilor oxalici. Litiaza urinară oxalică, spre deosebire de litiază urinară minerală (cu fosfați și carbonați), și cea organică (cu acid uric sau xantină), este caracterizată printr-o etiopatogenie mixtă, mineralo-organică, acest fapt prezintă importanță în patogenie. Acest tip biochimic de litiază este o boală de organism și numai în cazuri excepționale una de organ. A preciza tipul de litiază oxalică reprezintă stabilirea diagnosticului etiologic și elaborarea, în consecință, a măsurilor profilactice și terapeutice.

2.2. Biomineralizarea: arta naturii!

Potrivit celei mai răspândite definiții, „Biomineralizarea” se referă la formarea mineralelor anorganice cu morfologii fascinante, organizare ierarhică și proprietăți superioare, cu ajutorul materialelor organice în natură [80-83]. Nucleizarea, creșterea, tipul de polimorf și orientarea componentelor anorganice este puternic controlată de biomoleculele conținute. Câteva dintre biomineralele găsite în natură, care sunt de fapt materiale hibride organice/anorganice cu dezvoltare superioară și proprietăți remarcabile sunt: calcitul și aragonitul (în moluște: în exoschelet), hidroxiapatită (ex. vertebre: endoschelet și dinți), fluorapatită (ex. rechini: smalțul dinților), gips (ex. pești: receptorul gravitațional), magnetite (bacterii: magnetotaxis) ș.a.

Proprietățile și funcțiile extraordinare ale biomineralelor au atras curiozitatea cercetătorilor care au deschis calea dezvoltării „Chimiei materialelor biomimetice”. Adaptarea conceptelor de biomineralizare, precum înțelegerea rolului fazelor organice în controlul structurii și fazei materialelor anorganice duce la dezvoltarea unor abordări cu totul noi ale exact materialelor anorganice [84, 85]. Cu toate acestea, este de obicei foarte complicat să obții componența matricei structurii anorganice în interiorul mai multor niveluri ierarhice pe căi sintetice, căci partea „organică” într-un sistem biogenic este de obicei un amestec de mai mulți polimeri în cantități foarte mici. Totuși, un model de sistem care să mimeze multe aspecte ale procesului de biomineralizare poate fi considerat de succes chiar dacă formarea arhetipului natural nu este încă pe deplin înțeleasă. Pe de altă parte, un model de sistem, care să mimeze matricea organică și/sau anorganică este un mod eficient de a înțelege procesele de biomineralizare și de a le mima. Un prototip excelent pentru o astfel de abordare sunt agregatele compozite de fluorapatite-gelatină crescută biomimetic care mimează procesele implicate în formarea osului și a dintelui de către Knip și colaboratorii săi [86-88]. Acest model de sistem biomimetic este perfect de potrivit pentru dezlegarea complexităților legate de osteo și dentino geneză.

O investigație sistematică a evoluției morfologice și interacțiunea componentelor organice cu fazele anorganice sunt esențiale pentru înțelegerea biomineralizării și dezvoltării procesării materialelor biomimetice.

2.3. Bioactivitatea oxalaților de calciu

Un aspect intrigant al biogenezei oxalatelor de calciu este acela că constituie un proces normal fiziologic în plante și fungi, în timp ce se manifestă în patofiziologia „urolitiazei” în organismele umane și ale animalelor domestice. Prin urmare, biomineralizarea poate fi fiziologică sau patologică și este extrem de necesară delimitarea extinderii mineralizării pentru a înțelege mecanismul „biomineralizării patologice”. Exemple pertinente de calcifieri patologice: oxalate de calciu și fosfat de calciu în uroliti; oxalat, fosfat respectiv carbonat de calciu în pietre biliare, calculi ai cavității nazale și salivare; fosfat respectiv carbonat de calciu în calculi dentari, concrețiuni ale valvei cardiace.

Toate calcificările patologice constau în fosfați de calciu (CaP), carbonați (CaCO_3) și -oxalați (CaOx) amalgamizate cu macromolecule organice.

Motivele și mecanismele proceselor care generează uroliti, pietre la fiere și alte concreșcențe rămân încă un punct de discuție. Urolitiaza care este adesea denumită „boala civilizației” se referă la formarea de pietre (calculi) la rinichi, tractul urinar, uretră sau vezică urinară [89, 90].

Aproximativ 70% din toate pietrele la rinichi sunt compuse din oxalați de calciu fie unari (simplici), fie amestecați cu fosfați de calciu (miști) [91]. De asemenea, se formează alte faze anorganice precum struvitul. Fosfații de calciu care formează o fracțiune minoră sunt de obicei prezenți sub formă de apatită (hidroxiapatită sau carbonatapatită) uneori sub formă de brushit ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) și rar ca whitlockite ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$). Hidroxiapatita ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$) este prezentă în calculi formați în urină sterilă și carbonatapatita (cu un conținut diferit de ioni carbonat), în pietre asociate cu infecția.

2.3.1. Chimia cristalizării oxalaților de calciu și aspecte morfologice

În natură, oxalatul de calciu există în trei stări de hidratare diferite: oxalat de calciu monohidrat monoclinic (COM, $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, whewellite), care este din punct de vedere termodinamic faza cea mai stabilă la temperatura camerei, oxalat de calciu dihidrat tetragonal (COD, $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot (2+x)\text{H}_2\text{O}$, weddellite) și oxalat de calciu trihidrat triclinic (COT, $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot (3-x)\text{H}_2\text{O}$, caoxite).

Analiza general acceptată a structurii cristalului de COM a fost realizată de Tazzoli și Domeneghetti [92, 93] (intrarea în baza de date JCPDS 75-1313). În conformitate cu aceasta, COM arată legătura cu clasa prismatică a sistemului monoclinic; există un plan de simetrie și axa secundară (*b*) este perpendiculară pe planul de simetrie. Celula elementară are grupul spațiului de simetrie $P21/c$ cu parametrul $a=6.290(1) \text{ \AA}$, $b=14.583(1) \text{ \AA}$, $c=10.116(1) \text{ \AA}$, $\beta = 109.46^\circ$, $Z = 8$, $V=876.228 \text{ \AA}^3$. Unitatea celulei și poliedrul legăturii de calciu sunt descrise în figura 2.1 (A,B).

Legătura poliedrică a atomilor pseudo-echivalenți de Ca1 și Ca2 sunt antiprisme pătrate distorsionate cu fiecare ion de Ca legat de opt atomi de oxigen. Doi ioni oxalați sunt legați cu legături duble de calciu în timp ce trei ioni oxalați se comportă prezentând legături monodentate (figura 2.1 (B)). Din punct de vedere cristalografic, sunt doi ioni oxalați non-echivalenți, Ox1 și Ox2 care se găsesc în două structuri ambientale diferite: Ox1 este în legătură plană cu șase ioni de calciu și Ox2 este înconjurat de patru ioni de calciu și două molecule adiționale de apă sunt legate prin legături de hidrogen de atomi de oxigen ai Ox2. Unitățile de Ox1 sunt dispuse paralel cu planul (100) prin legături de C1-C2 aproape paralele cu axa *b*

(Figura 2.1 (A)). Unitățile de Ox2 alternează cu molecule de apă și formează încrângături (panglici) care se desfășoară în plan de-a lungul axei c. Straturile de Ca-Ox1 sunt legate unele de altele prin Ox2 și moleculele de apă (Figura 2.1 (C)). Cu alte cuvinte, structura cristalului de COM conține straturi constând în Ca împreună cu Ox1 (stratul 1) și respectiv cu Ox2 (stratul 2), care sunt dispuse în lung.

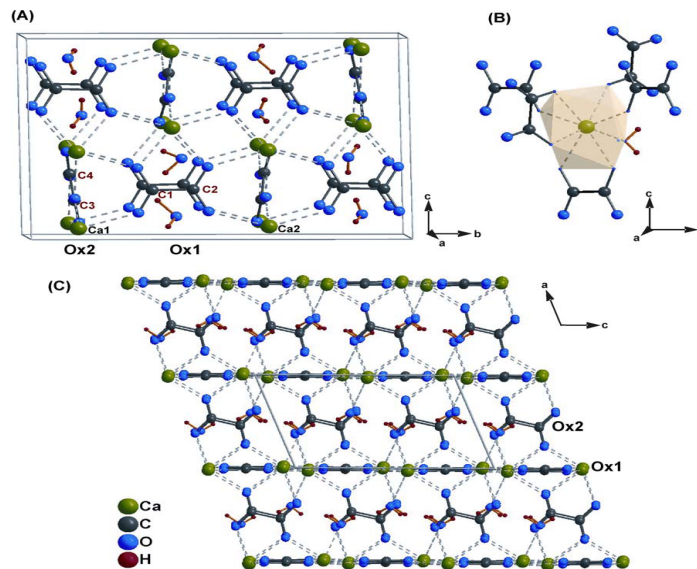


Fig. 2.1. Structura cristalului de COM: (A) unitatea celulei de COM, (B) poliedrul CaO₈, (C) dispunerea pe lung a grupurilor de Ca și a celor de OX

Rar se întâlnește ca COM să prezinte trei polimorfi. Unul dintre ei se obține prin deshidratarea formei de oxalat de calciu anhidră la 118°C [93, 96]. Este bine cunoscut faptul că atât COM natural cât și cel sintetic nu apar în mod curent ca cristale singure, ci ca cristale gemene și intercreșteri în gemeni [97- 100].

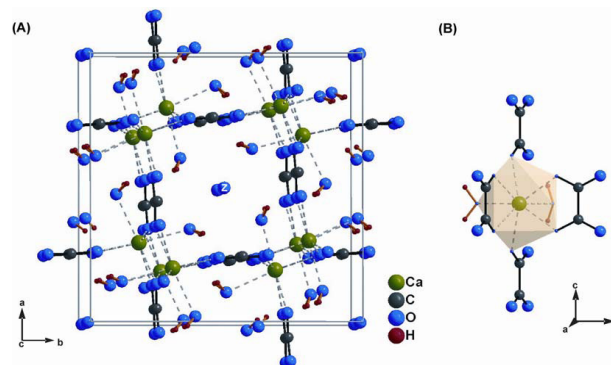


Fig. 2.2. Structura cristalului de COD văzută alungit [001] (A) și poliedrul cu legăturile în jurul Ca (B)

Oxalatul de calciu dihidratat (COD) aparține sistemului de cristal tetragonal cu parametrii unității celulare $a = b = 12.371(3) \text{ \AA}$, $c = 7.357(2) \text{ \AA}$, $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$, $Z = 8$, $V = 1125.937 \text{ \AA}^3$ și grupul spațial $I4/m$ [101, 102]. Desigur, opt molecule de apă sunt legate cu cei patru ioni de Ca formând astfel un dihidrat $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Fig. 2.2 A, B).

Ionul de Ca este legat de opt atomi de oxigen din două molecule de apă și patru oxalați. Poliedrul legat în jurul Ca este o antiprismă pătrată distorsionată și formează un spațiu/canal deschis în centrul structurii de-a lungul celor patru axe duble, în care sunt plasate moleculele apei zeolitice (denumite ca z în Fig. 2.2 A). Conținutul de apă maxim de $2.5 \text{ H}_2\text{O}$, descris cu poziții disociate a fost confirmat de Tazzoli și Domeneghetti [92].

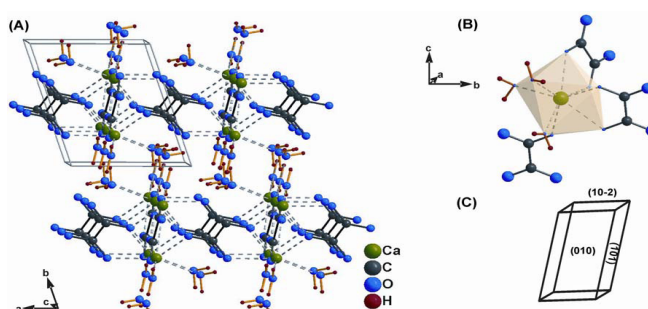
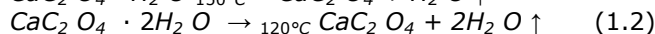
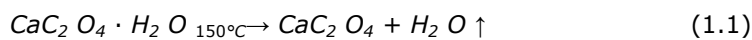


Fig. 2.3. Structura cristalului de COT (A) și poliedrul legăturii de Ca (B).
Înfățișarea prismatică triclinică a COT crescut din soluție apoasă (C).

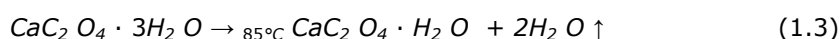
Oxalatul de calciu trihidrat (COT) cristalizează în sistemul de cristal triclinic [93,103,104]. În COT, trei din opt atomi de oxigen legați de Ca aparțin moleculelor apei, patru sunt din doi ioni oxalați și un oxigen este din un al treilea ion oxalat (Fig. 2.3 A, B). În general, COT cristalizează în morfologie prismatică triclinică sau în morfologie paralelogram de tip plat. (Fig. 2.3 C) [105-107].

2.3.2. Oxalat de calciu anhidru

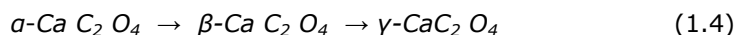
În afară de cele trei forme hidratate, oxalatul calciu există, de asemenea, în formă anhidră (COA). Mai multe investigații termice asupra oxalaților de calciu sunt prezentate în literatura de specialitate [108, 109]. Deshidratare deplină a COM și COD se desfășoară în conformitate cu ecuațiile (1.1) și (1.2) într-un singur pas reacțiile de pierdere a una și respectiv două molecule de apă.



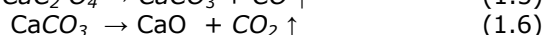
Deshidratare totală a COT decurge în două etape. Așa cum se arată în ecuația (1.3), COT se descompune prima dată la COM prin pierdere a două molecule de apă, urmat de un al doilea pas pentru a forma oxalat calciu anhidru (COA), după cum este descris în ecuația (1.1). Deshidratarea COT în oxalat de calciu anhidru prin COM și nu COD se datorează similarității structurale a COT la COM.



COA însăși a fost raportat că face obiectul tranzițiilor de fază dependente de temperatură pentru modificările de la α - la β - (250 °C) și la γ - (410 °C) așa cum reiese din ecuația (1.4), dar acest lucru este discutat controversat [110-115].



Creșterea în continuare a temperaturii duce la descompunerea COA la carbonat de calciu (450 °C) (ec. (1.5)), care însăși se descompune la temperaturi mai mari în oxid de calciu (860 °C) (ec. (1.6)).



Aspecte morfologice ale oxalațiilor de calciu biogenici

COM monoclinic și COD tetragonal sunt cele mai comune fito-cristale și al principalelor elemente constitutive ale calculi renali și ale căilor urinare. Chiar dacă COT triclinic este întâlnit rar în calculi urinari, se presupune a fi un precursor al COD [116, 117].

Calculii renali, ca și corespondenții lor salubri, conțin întotdeauna o matrice macromoleculară distribuită de-a lungul structurii care este o aglomerare complexă de proteine, lipide, glicosaminoglicani, polizaharide și reziduuri celulare [118-120]. Matricea organică este o parte inevitabilă și integrală a calculilor, șerpuiind de-a lungul întregii structuri și ocupând mult mai mult spațiu decât ar fi de așteptat, având în vedere contribuția sa de numai 2-3-% din masa totală. COD este cel mai probabil prevalent în urină, pe când pietrele aflate în rinichi sunt predominant COM. Acest lucru se datorează capacității reduse de COD de a forma agregate stabile și de a se atașa puternic de celulele renale epiteliale [118].

Calculii COM sunt clasificați în două grupe tipul I: calculi papilari și tipul II: calculi ne-papilari. Calculii de tip I au o înfățișare conică și par alipiți de papilele renale. Acest tip de calcul conține un nucleu, un strat intermediar striat radial și un strat periferic laminat concentric. Miezul poate consta în cristale COM crescute laolaltă sau materie organică sau hidroxiapatită. Regiunea exterioară a nucleului este acoperită cu un strat de materie organică deasupra căruia cresc cristale colonare juxtapuse sub formă de foi, perpendiculare pe suprafața nucleului. Straturile laminare concentrice sunt formate prin întreruperea cristalelor colonare de către acumularea de materie organică.

Calculii COM de tip II sunt în mod tipic sferici și sunt formați în calicea renală. Ei sunt clasificați în două grupe: IIa și IIb. Calculii de tip IIa nu conțin nucleu dar conțin numeroase cavități distribuite asimetric în interiorul pietri, care pot încapsula mici sfere de hidroxiapatită. Calculii de tip IIb conțin un nucleu alcătuit din materie organică (simplă sau amestecată cu hidroxiapatită sau COM) și un înveliș de cristale colonare COM care ies din nucleu. Astfel de calculi sunt sferici cu striții radiale și straturi laminare concentrice [121-123]. Calculii de tip IIb sunt relevanți pentru prezentul studiu.

Calculii COD sunt de asemenea împărțiți în două categorii: tipul I (calculi papilari) și tipul II (calculi nepapilari). Calculii COD de tip I sunt agregate mari de cristale COD formate pe un calcul papilar Com foarte mic sau pe un depozit papilar de hidroxiapatită. Calculii COD de tip II sunt mai departe clasificați în calculi de tip IIa și IIb. Calculii de tip IIa conțin cristale COD cu cantități variabile de COM sau hidroxiapatită distribuite asimetric. Calculii de tip IIb pot de asemenea conține cantități variabile de COM și sunt caracterizați de straturi alternative de cristale COD și hidroxiapatită combinate cu materie organică. S-a demonstrat că oxalatul de calciu monohidrat (COM) existent în calculii COD este format prin transformarea

COD în COM stabil din punct de vedere termodinamic. Printre factorii care produc calculi COD sunt incluși: proporția ridicată de Ca^{2+} din oxalat, forța ionică ridicată și existența unor valori de pH urinar mai mare decât șase.

Cristalele de oxalat de calciu se pot observa și în urină neutră și alcalină, unde COM formează cristale ovale sau sub formă de haltere [124] și COD formează cristale tetragonale. Cantități excesive de forme monohidrate de tip haltere se pot identifica și în cazul intoxicației cu etilen-glicol (anti-îngheț) [125]. În general, pietrele COM sunt formate prin agregarea microcristalelor pentru a forma diverse morfologii, de la haltere până la sferulite. Aglomerare de cristale COM este considerată drept un pas important în dezvoltarea pietrelor renale [121]. Materia organică încorporată în calculi stimulează agregarea și alipirea cristalelor de celule acționând ca un adeziv [118]. S-a raportat că o combinație de aglomerări primare ale cristalelor, care formează calculi, și nucleația noilor cristale pe un strat de (glico-) muco-proteine care acoperă parțial suprafața lor constituie mecanismul posibil pentru dezvoltarea pietrelor [121, 122].

Morfologiile tip haltere și morfologiile sferulitice de oxalați de calciu biogenici sugerează faptul că fenomenul de cristalizare a sferulitelor, care este discutat ca și consecință a cristalizării rapide într-un mediu cu vâscozitate mare, este relevant pentru acest sistem. Mai mult, au existat păreri conform cărora formarea pietrelor în medii tip gel de macromolecule prin fluxul urinei suprasaturate, este una din cauzele probabile ale creșterii sferulitice [116,123]. Adevăratele sferulite sunt agregate epolicristaline care constau în microcristalite aranjate radial formând o sferă aproximativă [126- 128].

2.4. Cristalogeneza oxalică – privire de ansamblu

2.4.1. Cristalizarea oxalaților de calciu

Cristalizarea oxalică este factorul etiopatogenic fundamental al bolii oxalice. Fără această cristalizare, prezența în organism a hiperoxalemiei și a hiperoxaluriei este inofensivă. Cristalizarea oxalică in vivo nu se poate produce decât în prezența ionilor de oxalat și de calciu, așa cum se întâmplă în căile urinare, biliare, digestive sau în țesuturi. Cristalizarea in vitro se observă în soluții artificiale mixte de oxalat și calciu sau în urină, după micțiune.

Precipitarea din soluția apoasă este una din cele mai vechi operații chimice care au fost intens exploatate. Dar problema asociată cu cristalizarea oxalatului de calciu din soluții este aceea că, o multitudine de cristale microscopice sunt formate în timpul amestecului rapid de calciu și soluții oxalate cauzat de slaba solubilitate a oxalaților de calciu. Solubilitatea oxalatului de calciu depinde de hidratarea sa. Oxalatul de calciu dihidrat este mai solubil în urină decât oxalatul de calciu monohidrat. Oxalatul de calciu trihidrat ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) este de trei ori mai solubil decât monohidratul. În apă la 25°C produsul de solubilitate, K_{sp} al COM este 2×10^{-9} [129], COD este 4.89×10^{-9} [130] și al COT este $7.19 \times 10^{-9} \text{ mol}^2/\text{l}^2$ [131]. Aceste cristale sunt de obicei prea mici și de asemenea ușor alterabile de fluxul de electroni, ceea ce face ca studiul specimenului în detaliu să fie neadecvat.

Cu toate că urina bolnavilor cu litiază oxalică este supraconcentrată cu oxalat de calciu, nu este suficient de suprasaturată ca să cristalizeze spontan oxalatul de calciu. De aici rezultă că în cristalizarea oxalică intervin, pe lângă

suprasaturarea urinei cu oxalat de calciu și o serie de alți factori favorizanți. Cristalizarea oxalică este un proces fizico-chimic complex care depinde nu numai de concentrația ionilor de oxalat de calciu, dar și de o serie de alți factori: pH, forța ionică, tensiunea superficială, prezența impurităților, prezența sau absența inhibitorilor naturali sau artificiali ai cristalizării. În urina din afara organismului, cristalizarea oxalică urmează alte mecanisme decât cea in vivo, (in vitro nu s-au constatat conglomerarea spontană a cristalelor de oxalat de calciu sub formă de concrețiuni dure, similare cu calculii oxalici). Există un strâns raport între saturația urinei în oxalat de calciu și cea a inhibitorilor cristalizării din urină, între saturația urinei și pH etc.

Un factor favorizant al cristalizării oxalice este, de asemenea, și reducerea debitului urinar de apă. Supraconcentrarea urinară în oxalat de calciu este mai intensă la litiatici decât la normali cu toate că concentrația urinară de oxalat de calciu este aproximativ aceeași la ambele tipuri de subiecți. Deoarece, raportat la volumul mai are de urină, persoanele litiatice excretă de două ori mai mult oxalat de calciu, precum și datorită excreției urinare mai mici de P^{3-} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ , SO_4^{2-} , la persoanele care prezintă calculi permite ca urina să devină suprasaturată în oxalat de calciu.

După inițiere, cristalele de oxalat de calciu cresc prin mecanismul epitaxiei. Acesta reprezintă fenomenul formării cristalelor prin creșterea orientată a unui cristal de-a lungul axei cristalografice predominante. Axa cristalografică predominantă este orientată la întâmplare, ceea ce face ca un cristal să crească într-o singură direcție până la câțiva centimetri.

Oxalatul de calciu monohidrat precipită din soluție ionică, în mediu alcalin, pe când în materia vie precipitarea sa are loc într-un mediu neutru și coloidal.

Cristalizarea și forma cristalelor de oxalat de calciu sunt influențate și de mediul coloidal, protidic, din lichidele și țesuturile organismelor vii, unde au loc aceste fenomene fizice.

Numai o mică parte din studiile precedente au abordat biomineralizarea "reală" sau morfogeneza oxalaților de calciu. Printre acestea, efectele polielectroliților asupra cristalizării oxalatului de calciu au fost subiectul cercetărilor încă din anii 1960 într-o tentativă de a descoperi metodologia pentru inhibarea formării calculilor prin proteine urinare bogate în acid care suprimă cristalizarea oxalatului de calciu chiar și în condiții de suprasaturare [132]. Aceste experimente au dovedit ca precipitarea oxalatului de calciu este afectată de prezența polielectroliților. Conform constatărilor, cantitatea de COD crește o dată cu creșterea concentrației de polimer folosită în concordanță cu mecanismul de auto-apărare a organismului uman.

Recent s-a demonstrat cum se pot controla stările de hidratare COM sau COD, precum și morfologiile prin cristalizare simplă din soluții apoase ușor suprasaturate în prezența aditivilor polimeri bogați în acid cum ar fi: poli-L-aspartat, poli-L-glutamat și poli-acrilat (PAA) [133]. S-a remarcat faptul că acești polimeri schimbă forma COD-ului din bipiramide tetragonale în haltere, și chiar sfere bazat pe interacțiunea preferențială a polimerului cu fațetele (100) ale COD la creșterea concentrației de polimer. Activitatea acestor biopolimeri cu oxalații de calciu pare să fie destul de complexă. S-au adus argumente în favoarea faptului că eficiența lor se datorează masei moleculare specifice, regiunilor hidrofobice și hidrofilice și unei potriviri strânse între spațierea grupărilor acide și spațierea cationilor pe suprafețele cristaline [134].

Cristalele de acid uric au rol important în nucleația oxalatului de calciu. Uratul monosodic sub formă amorfă sau cristalină poate determina formarea de

calculi renali prin inducere a nucleației eterogene a oxalatului de calciu și /sau a fosfatului de calciu. De asemenea, uratul monosodic leagă sau complexează unii inhibitori urinari ai cristalizării oxalice și ai agregării cristalelor de oxalat de calciu.

Creșterea nucleării și aglomerării cristalelor de oxalat de calciu prin peroxidarea proteinelor din matricea calculilor urinari și celulele renale la oameni a fost demonstrată prin diverse studii care sugerează că peroxidarea proteinei sau țesutului are o influență notabilă asupra proprietății de nucleere și agregare a dezvoltării cristalelor de oxalat de calciu.

2.4.2. Suprasaturarea în oxalat de calciu

Urolitiiza reprezintă un proces cinetic, iar descrierile noncantitative ale proceselor cinetice sunt adesea inadecvate pentru a explica diferențele percepute. Pentru analiza cantitativă, clinică, care ea însăși este o țintă dorită, este necesară dezvoltarea a mai multor ecuații pentru a descrie procesele legate de urolitiize [135].

Tiselius a propus prima dată factorul $AP_{(CaOx)}$, care pentru mult timp a fost acceptat ca metoda standard pentru simpla estimare a saturării în oxalatul de calciu, însă mai recent a prezentat un factor $AP_{(CaOx)}$ modificat [$EQ = AP_{(CaOx)} \cdot 10^8$] care este mult mai apropiat de valoarea produsului activității ionice a oxalat de calciu ($AP_{(CaOx)}$) obținut prin aproximare computerizată iterativă, folosind programul Equil 2 [136]. Această modificare adusă de către Tiselius la factorul /constanta de saturare urinară în oxalatului de calciu își propune să ofere rezultate care aproximează mai bine decât cele obținute prin programul Equil 2. S-a arătat că factorul este dependent de timp. S-a încercat modelarea unui factor similar al $AP_{(CaOx)}$, adică $EQ_2 (=AP_{CaOx})$ fără a lua în considerare coeficientul de volum sau de timp, care poate fi calculat din concentrațiile urinare ale calciului (Ca), magneziului (Mg), oxalatului (Ox) și citratului (Cit). Factorul EQ_2 al AP_{CaOx} a fost calculat [137] după cum urmează:

$$AP_{CaOx} = 6,839 \times 10^{-5} \times [Ca]^{0,78} \times [Mg]^{-0,30} \times [Ox]^{0,91} \times [Cit]^{-0,17} \quad (\text{totul exprimat în mol/L})$$

sau

$$AP_{CaOx} = 1,496 \times 10^{-8} \times [Ca]^{0,78} \times [Mg]^{-0,30} \times [Ox]^{0,91} \times [Cit]^{-0,17} \quad (\text{totul exprimat în mmol/L}).$$

Factorul AP_{CaOx} al lui Tiselius este exprimat după cum urmează:

$$AP_{CaOx} = K \times [Ca]^{0,71} \times [Mg]^{-0,14} \times [Ox] \times [Cit]^{-0,10} \times V^{0,27}$$

În plus, indicele EQ al lui AP_{CaOx} Tiselius este exprimat astfel

$$EQ = A \times [Ca]^{0,84} \times [Mg]^{-0,12} \times [Ox] \times [Cit]^{-0,22} \times V^{0,47}$$

Acești factori au o relație pozitivă cu volumul urinei. Astfel, o probă de urină cu un volum mare are o valoare aparent mai mare a factorului, ceea ce face ca acești indici să ofere informații contradictorii la compararea cu rezultatele obținute prin metoda Equil2, sugerând necesitatea unei modificări ulterioare. Totuși, o corelație apropiată între acești indici a fost confirmată clinic în cazul urinei de către Tiselius și prin intermediul acestui studiu, sugerează faptul că volumul urinei are doar un efect minim asupra acestui factor, așa cum reiese din formulă. S-a descoperit că indexul EQ al lui AP_{CaOx} prezintă cea mai scăzută corelație cu metoda

Equil2 în cadrul seriilor de urină recoltate la 2,5 ore. Studiul indică, de asemenea, că atât factorul EQ₂ [137] cât și metoda Equil2 care folosește patru variabile cu alți parametri fixați, au prezentat o puternică corelare cu metoda Equil2 care folosește 14 variabile. Pentru o mai bună înțelegere, AP_{CaOx}, raportul de suprasaturare (SS) și energia liberă diferențială a lui Gibbs sunt prezentate după cum urmează:

$$AP_{CaOx} = SS \times Ksp = SS \times 6,16 \times \frac{10^{-6}}{2746}$$

$$DG = 1,2935 \times \ln(SS)$$

Indexul prezentat în acest studiu pornește de la premisa că Equil2 reprezintă "standardul de aur" în estimarea saturării urinare în oxalat de calciu. Echilibrul ionic urinar a fost pentru prima dată verificat de Finlayson în 1977 [138], programul Equil a fost testat ulterior de Marshal [43] și Robertson [52].

3. Investigarea compoziției calculilor renali

3.1. Investigarea metaboliților în urolitogeneză

Pentru urolitiază în investigațiile de laborator, bazate pe chimia clinică, se procedează la efectuarea analizelor specifice pentru: sânge, urină și uroconcremente (calculi). Metodele utilizate în determinări pot fi chimice și fizico-chimice. Complexitatea analizelor depinde de dotarea laboratorului. La analizele de chimie clinică se asociază uneori și analize microbiologice.

- Analiza de sânge permite determinarea uricemiei (acid uric) creatininemiei (creatinina); oxalemiei (acidul oxalic), uremiei (ureea), rezervei alcaline (cuantumul de carbonați), pH-ului sanguin. Din probele de sânge se determină concentrația unor ioni (ionograma sanguină): calcemia, magnezemia, natremia, kalemia, cloruri, fosfați anorganici, etc.

- Analiza de urină - interesează pentru faptul că urolitiazele se formează în urina considerată ca "soluție metastabilă". În primul rând, se procedează la analiza complexă a urinei. În acest sens, din urina de 24 ore se efectuează următoarele: examenul sumar de urină, ionograma urinară și urocultura (urmărind spectrul microbial, uneori de origine alimentară).

- Analiza uroconcremenților (calculilor) - se face pe calculi obținuți prin eliminare spontană sau în urma intervenției chirurgicale de la pacienții internați în clinică.

Tehnici de screening utilizate în laboratorul clinic în cazul urolitiazelor constau în investigații biochimice (analiza de sânge, proba cu urina de dimineață, urina de 24 de ore, testul de clorură de amoniu pentru acidoză renală tubulară, determinarea cristalelor în urină) și determinarea compoziției chimice a calculilor prin: radiologie, analize chimice, tehnici speciale.

Pentru pacienții cu calculi renali este obligatorie analiza de sânge și urină, iar testul de NH_4Cl se face doar pentru anumite cazuri.

3.2. Investigarea calculilor în laboratorul de chimie clinică

Calculi urinari sunt concrețiuni având forma unor pietricele eliminate din urină. Prezența lor în urină este dată de precipitarea, de regulă împreună, unor substanțe organice și anorganice întâlnite frecvent în sedimentul urinar, în anumite condiții.

Substanțele care intră în constituția unui calcul urinar – oxalat de calciu, acidul uric, urații, fosfați de calciu și magneziu, cistina, xantina ș.a. – se depun în mod frecvent sub forma de straturi alternante în jurul unui nucleu sau sunt amestecate intim.

Alături de calculi cu compoziție mixtă, pot exista și calculi omogeni de oxalat de calciu, acid uric și urați, fosfați de calciu și magneziu, xantină etc. Aceștia din urmă se întâlnesc foarte rar, iar calculii urinari exclusiv minerali nu se întâlnesc.

Dacă un calcul renal este "in situ", compoziția chimică poate fi dedusă prin măsurarea gradului de radio-densitate (tabel 2.2.). Datorită poziției sale intermediare, calculii mici cistinici sunt radiolucenți, iar cei mari sunt vizibili pe film (X-Ray) de radiografie. Calculii renali urici, de asemenea sunt radiolucenți.

Pot fi vizibili fie datorită mărimii, fie datorită "atașării" de aceștia a sărurilor de calciu.

Tabel 2.2. Proceduri pentru investigarea calculilor renali

Compoziția chimică a calculilor	Densitatea determinată radiologic	- Oxalatul de calciu și fosfatul de calciu – formează cei mai denși calculi, sunt calculi foarte mici și vizibili - Fosfatul de amoniu cu magneziu și cistină – formează calculi mici radiotranslucenți - Acid uric și xantină – formează calculi radiotranslucenți
	Investigații chimice	Analize cantitative pentru fosfor, magneziu, amoniu, oxalați și urați
	Microscopie optică Difractometrie cu raze x Analiza termică Spectrometrie FTIR SEM-EDAX Spectrometrie de Absorbție Atomică	În centre speciale sau proiecte de cercetare

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

Determinarea compoziției chimice a unui calcul se poate face prin metode calitative, semicantitative și cantitative [139-141].

Pentru identificarea compușilor chimici din uroconcremente se utilizează metode calitative. Pentru dozare se utilizează metode semicantitative și cantitative.

În funcție de compoziția chimică calculii (sau urolitiarele) pot fi clasificați în două grupe: a) calculi anorganici: fosfatici (din fosfat de calciu și din fosfat amoniaco-magnezian), carbonatici; b) calculi organici: purinici (cu acid uric, urați, xantina, 2,8-dihidroxiadenina), oxaici, cistinici.

3.2.1. Examenul fizic al calculilor urinari

Examenul fizic al unui calcul urinar urmărește identificarea acestuia pe baza particularităților fizice prezente, oferă informații orientative cu privire la natura și constituția calculului.

În acest scop, după o prealabilă spălare, și uscare pe hârtie de filtru, se urmărește și se notează forma, mărimea, culoarea, greutatea, densitatea, duritatea. De asemenea se studiază structura în secțiune (aspect amorf, cristalin, radiar), natura omogenă sau mixtă (structuri concentrice, prezența unui nucleu ș.a.).

În funcție de principalele particularități fizice se deosebesc mai multe tipuri de calculi urinari:

1. *Calculi urici* – sunt alcătuiți din acid uric și urați alcalini și prezintă o culoare galbenă până la roșu cărămiziu, suprafață rugoasă, sunt duri și denși și greu

secționabili, radiotransparenți. Prin secțiuni transversală se pune în evidență structuri concentrice fine. Nucleul central, adesea este format din alt component. Sunt rotunzi sau ovali, cu suprafață netedă, dimensiune variabilă (de la a unui „fir” de nisip la aceea a unui pumn de adult), aspect de sâmbure de curmală. Se formează de regulă în calice sau bazinet. În cazul unui pH acid, sunt prezente cristale de acid uric și acid uric crescut în urină.

2. *Calculi de urat de amoniu* – au o culoare galben deschis sau roșcată și sunt îmbibați cu apă. După uscare calculii devin sfărâmicioși.

3. *Calculi de oxalat de calciu* – sunt albi-bruni sau negrii-cărămizii datorită pigmentilor sangvini rezultați din hemoragiile pe care le determină. Suprafața lor este dură, cu aspect de mură (oxalat de calciu monohidratat) sau cu structură cristalină vizibilă la exterior (oxalat de calciu dihidratat). Au consistență dură, de obicei sunt unici și foarte rar multipli. În secțiuni transversală se evidențiază o structură cristalină sau granulară, uneori în zone concentrice.

4. *Calculii de fosfat de calciu* au culoarea alb-cenușie, suprafața netedă, dimensiuni și forme variabile. De obicei, acești calculi sunt voluminoși (coraliformi). Duritatea lor este medie. Calculi de fosfați amoniaco-magnezieni – sunt albi sau galbeni cenușii. Suprafața lor este netedă sau nodulară și sunt ușor friabili. Secțiunea transversală pune în evidență o structură variată: lamelară, cristalină uneori poroasă. Calculii constituiți din fosfat de magneziu și amoniu hexahidrat (struvit) sunt de culoare alb-strălucitoare, de consistență moale, sfărâmicioși.

5. *Calculi de cistină* – de culoare galben deschis și translucizi, cu aspect ceros, cu formă rotundă sau ovală, cu suprafațe netede, consistență moale-ceroasă, lucioși. Prin secționare transversală se evidențiază o structură radiară, distingându-se uneori plăcuțele hexagonale caracteristice cistinei. Sunt solubili în acid clorhidric și amoniac, iar pus pe o lamelă de platină și încălzit, arde fără să se topească transformându-se într-o masă voluminoasă de cărbune.

6. *Xantina* – poate duce la formarea unor calculi brun-roșcați, reactiv duri, netezi, care 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 brună.

3.2.2. Analiza chimică calitativă și cantitativă

Pentru o analiză chimică a calculului urinar, se mojarază până se obține o pulbere fină. Din această pulbere se fac diverse încercări calitative pentru a identifica substanțele care alcătuiesc calculul respectiv, precum și pentru o apreciere a substanțelor, puse în evidență, preponderente cantitativ.

3.2.2.1. Identificarea principalilor anioni și compuși cu specific anionic

a) Acidul uric și urații se pot evidenția prin utilizare de acid fosfomolibdic în soluție de tampon borat - apare o culoare care variază de la vernil la albastru intens. Pentru identificarea acidului uric mai este întâlnită reacția murexidului care constă în utilizarea soluției de hidroxid de sodiu, rezultând o colorație violet intensă sau a hidroxidului de amoniu când rezultă o colorație purpurie [142-144].

b) Oxalații se determină 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, dacă apare un precipitat alb prin adăos de acetat de sodiu 25% la pulberea de calcul dizolvat în HNO_3 , calculul conține oxalat [145, 146].

c) Cistina se evidențiază printr-o reacție de reducere. În mediu alcalin și în prezența nitroprusiatului de sodiu, cistina este redusă la cisteina de sulfitul de sodiu. Reacția se traduce printr-o colorație roșie [147, 148].

d) Carbonatul din calculi se identifică prin dizolvarea pulberii la adaos de HCl și NH_4OH [146].

e) Fosfații se pot evidenția prin adăugarea de molibdat de amoniu rezultând acid fosfomolibdic care se reduce în molibden bleu de un reducător (metilamino - 4-fenol-sulfat, disulfid de sodiu). Apare o colorație de la vernil la albastru închis [146].

3.2.2.2. Identificarea principalilor cationi

a) Calculul mojarat (cu conținut de calciu) este tratat cu acid clorhidric, încălzit până la fierbere, apoi centrifugat, fără să se fi dizolvat și tratat cu acid azotic, acetat de Na, oxalat de amoniu rezultând un precipitat alb [146].

b) *Magneziul* se decelează prin tratarea pulberii din calcul cu soluție tampon borat cu azo-1-hidroxi-2- (dimetil-2- benzensulfonat de sodiu), formând un complex colorat în roșu [146].

c) Identificarea *amonului* se face cu reactiv Nessler rezultând culori de la galben la maro (în funcție de conținutul procentual al NH_4) [146].

3.3. Investigarea uroconcrementelor în chimia clinică

În investigarea urolitiazelor în chimia clinică se apelează tot mai frecvent, datorită performanțelor metodologice, la utilizarea metodelor fizico-chimice. În acest sens se discută unele dintre metodele care s-au impus treptat în patologia litiazelor: spectroscopia în infraroșu (IR), spectroscopia de absorbție atomică (SAA), termogravimetria (TG), difractometrie cu raze X.

Prin radiografie și/ sau analize chimice ar trebui să se poată stabili natura calculilor renali. Cristalografia cu raze X poate fi o tehnică de identificare a principalelor cristale din probe, dar metoda este doar semicantitativă.

3.3.1. Metode clasice de analiză

Metodele clasice [146] se bazează în general pe reacții de culoare, de precipitare, de oxido-reducere etc., și permit evaluarea calitativă și semicantitativă a componentelor chimici din uroconcremente.

Din aceste metode fac parte: proba arderii, metodă orientativă rapidă și metoda orientativă completă.

1. Proba arderii

Constă în încălzirea progresivă până la roșu, pe o flacără mică de gaz, pe vârful unei spatule de platină sau de nichel, a unei cantități foarte mici de pulbere fine de calcul. Substanța organică se carbonizează și apoi arde complet.

În funcție de rezultatele obținute se pot trage concluzii generale cu privire la compoziția calcului, astfel:

- Dacă calculul conține numai acid uric (sau proporție foarte mare acid uric) sau cistină nu rămâne reziduu sau rămâne o cantitate neînsemnată.

- Fosfații și oxalații nu se carbonizează și lasă un reziduu alb-cenușiu pulverulent mai voluminos.

-Calculi urinari sunt micști, neexistând calculi minerali puri, astfel dacă calculul nu arde dar se înnegrește, există un indiciu că el este format din substanțe minerale și organice.

2. Metodă orientativă rapidă

Pentru o orientare rapidă asupra calculilor se procedează astfel: la 0,1 – 0,2 g calcul transformat în pulbere se adaugă 2 mL apă și 0,5 mL acid clorhidric concentrat ($d = 1,19$) se încălzește până la fierbere. Pot exista două posibilități:

-Calculul *nu se dizolvă* - în acest caz, calculul este format din acid uric și urați. Pentru control se încearcă reacția murexidului, care constă în tratarea cu hidroxid de sodiu a calculilor rămași nedizolvați în acid clorhidric. Apariția colorației albastre violet denotă prezența acidului uric și a uraților.

-Calculul *se dizolvă*. În această situație, se adaugă hidroxid de amoniu (NH_4OH):

a) Dacă *nu se formează un precipitat* - calculul conține carbonați.

b) Dacă *se formează un precipitat* - se adaugă acid acetic:

- Dacă *se dizolvă* calculul a fost format din fosfați;

- Dacă *nu se dizolvă* calculul a fost format din oxalați.

3. Metodă completă de analiză

Dacă se dorește un rezultat complet se folosește o metodă completă de analiză. În acest caz reactivii folosiți sunt: acid azotic concentrat, soluție de hidroxid de sodiu 40%, acetat de sodiu 25%, oxalat de amoniu soluție saturată, fosfat de sodiu soluție saturată, iodură de potasiu 10%, hipoclorit de sodiu, reactiv molibdic (molibdat de amoniu, apă distilată, acid azotic concentrat). Metoda constă în: a) examenul macroscopic al calculului (examenul fizic) - culoare, aspect, aspect în secționare - oferă date referitoare la natura calculului, necesare pentru etapele următoare; b) examenul chimic - metode de identificare și dozare a componentelor chimici din uroconcremente - oferă informații despre compoziția calculilor.

4. Metode fizico-chimice performante utilizate în analiza calculilor

4.1. Considerații generale

Metodele fizico-chimice, denumite adesea metode instrumentale sau metode indirecte, au la bază legătura dintre structura chimică a unei substanțe de analizat și anumite proprietăți fizice. Prin măsurarea acestor proprietăți fizice se pot obține informații calitative și/ sau cantitative asupra compoziției și structurii chimice a substanțelor, materiilor prime și materialelor.

În cazul analizei chimice trebuie să se detecteze proprietatea fizică specifică componentului, utilizabilă la determinarea compoziției calculului.

Metodele fizico-chimice se preferă altor metode deoarece prezintă unele avantaje: durată scurtă pentru efectuarea unei analize; posibilitatea de automatizare; utilizarea unor cantități mici de substanță de analizat; posibilitatea înregistrării rezultatelor pentru evaluare interpretări și studii comparative; posibilitatea efectuării simultane a mai multor analize.

Între metodele fizico-chimice utilizate în studiul urolitiazelor se pot enumera: spectroscopia în infraroșu (SIR), spectroscopia de absorbție atomică (SAA), difractometria de raze X. Aceste metode au avantajul de-a permite obținerea unor date de acuratețe, prezentând chiar expeditivitate în raport cu metodele clasice [34, 147-150].

Palchik și colaboratorii [151] au studiat compoziția minerală a unor calculi urinari prin difractometria de raze X și spectrometria de vibrație. Compoziția microelementală a fost identificată cu ajutorul unui sincotron de radiații cu raze X fluorescente. Tipurile de calculi studiați au fost oxalat de calciu mono- și dihidrat (cel mai des întâlnit), fosfat sub forma de hidroxiapatită și struvit (cu un conținut mare de Ru) și acid uric (cu o concentrație de Sr minimă).

Primul calcul renal a fost descoperit și studiat la mumia unui adolescent de 16 ani în Egiptul Antic de către Elliot Smith, de compoziție mixtă (acidul uric în nucleu și fosfat de calciu în stratul periferic). Primii care au studiat astfel de calculi au fost Miller în 1929 [152] și Michell în 1989 [153]. În majoritatea cazurilor, examinarea calculilor reno-urinari, datând din antichitate, nu a evidențiat diferențe de compoziție, comparativ cu cei din zilele noastre.

Sperin și colaboratorii [154] în studiile sale au încercat să stabilească o legătură între dietă și formarea calculilor renali. Pentru acest scop a utilizat difracția de raze X și emisiile de raze X induse protonic (protonic induced X-ray emission (PIXE)). Calculii studiați au fost eliminați chirurgical și foarte bine sterilizați pentru a evita prezența unor faze ce introduc erori semnificative în analiza PIXE.

Beuramdane și colaboratorii [155] au făcut un studiu comparativ cu două tehnici FT-IR pentru diferiți calculi renali: transmisie prin pastile de KBr (KPT) și reflexie totală atenuată (ATR). Tehnica ATR este mai rapidă nu necesită un pretratament al acestora, în timp ce KPT este mai laborioasă.

Mandel și Mandel [48] au analizat numeroși calculi și au sugerat faptul că există o puternică conversie a oxalatului de calciu la fosfatul de calciu conținut într-un calcul renal. Acest mecanism este complex și cauza transformărilor nu este încă soluționată.

Frost [156] și colaboratorii au studiat oxalatul de calciu dihidrat natural (COD) cu ajutorul analizei termice, în atmosferă de azot, cu oxalatul de calciu dihidrat obținut în laborator și a propus un mecanism de descompunere termică a acestuia în 3 trepte.

1. $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CaC}_2\text{O}_4 + 2 \text{H}_2\text{O}$
2. $\text{CaC}_2\text{O}_4 \rightarrow \text{CaCO}_3 + \text{CO}$
3. $\text{CaCO}_3 \rightarrow \text{CaO} + \text{CO}_2$

Pentru a demonstra mecanismul propus a caracterizat COD și prin spectroscopie Raman. Importanța studiului făcut de Frost o reprezintă faptul că s-au determinat condițiile în care prezența COD nu poate fi observată.

Guerra-Lopez [157] a studiat calculi renali cu un conținut de oxalat de calciu monohidrat și dihidrat, precum și amestecuri de struvit și carbonatapatită, COD și carbonatapatită, COM și COD prin spectroscopie FT-IR, Raman și utilizând derivata a 2-a pentru spectrele FT-IR obținute. Rezultatele obținute de la analiza FT-IR pentru amestecurile de substanțe (calculi micști) au fost confirmate prin spectroscopia Raman, iar derivata a 2-a a fost calculată prin metoda Stavitzky și Golay (S-G).

Ștefănescu și colaboratorii [158] au studiat calculi reno-urinari prelevați chirurgical de la pacienți adulți și datorită dimensiunilor mari a unora dintre ei i-au analizat pe 3 zone distincte: extern, zona intermediară și nucleul, cu ajutorul analizei termice. Calculii studiați au fost de tip: $\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ și $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ și conform rezultatelor obținute din analiza termică și prin compararea cu etaloane s-au propus mecanisme de descompunere și transformare a acestora.



În alte cercetări aceiași autori [159] au studiat calculi de tip oxalat de calciu mono și dihidrat, precum și calculi ce conțin un amestec de oxalat de calciu monohidrat și acid uric, tot cu ajutorul analizei termice, din care s-a constatat că această metodă de analiză (AT) este specială și potrivită pentru calculii cu structură mixtă, deoarece oferă toate informațiile necesare determinării compoziției. Mai mult s-a constatat că analiza termică este suficient de selectivă și rapidă, iar rezultatele obținute sunt ușor de interpretat în comparație cu alte metode analitice.

Luis Negri [160] a făcut un studiu comparativ între pacienții cu calculi "puri" de tip AU și cei cu calculi de tip CaOx. S-a constatat că cele trei efecte ce pot cauza prezența (formarea) calculilor de tip AU hiperuricosuria, pH-ul acid din urină și un volum scăzut al urinei, iar formarea calculilor de tip CaO_x este favorizată de cantitatea mare de calciu din urină și de un indice activitate mare pentru producerea de CaOx.

Pak și colaboratorii [161] au sugerat că, caracteristicile biochimice ale calculilor de tip AU formați pot fi unice, eventual similare cu tulburările fiziopatologice care stau la baza gutei primare. În studiul său Pak a luat în considerare (a ținut cont), în selecția subiecților studiați, iar grupul AU a fost potrivit cu grupul de control în funcție de ani, greutatea corpului și gen. Motivul acestei

potriviri a fost faptul că o greutate a corpului ridicată ar putea cauza o rezistență a insulinei ce influențează pH-ul urinar.

Maalouf și colaboratorii [162] au găsit un puternic grad de asociere inversă între pH-ul urinar și organismul în care calculul s-a format, chiar și după ajustarea pentru vârstă și creatina urinară.

Daudon și colaboratorii [163] au analizat calculi produși de persoane cu o greutate corporală mare, și au constatat că la bărbați proporția de calculi cu conținut de calciu este mai scăzută la cei cu greutate mai mare și la cei obezi decât la cei cu o greutate normală, iar proporția de calculi cu conținut AU crește gradat cu greutatea corpului de la 7,1% pentru persoane cu greutatea normală la 28,7% la subiecții obezi.

Ficai și colaboratorii [164] au caracterizat calculii renali hidroxiapatită, CaCO_3 , CaO_x din punct de vedere al morfologiei și compoziției. Din punct de vedere compozițional au caracterizat calculii prin XRD și FT-IR, în timp ce caracterizarea morfologică a fost efectuată prin SEM. Au mai specificat că, compoziția specială a calculilor renali extrași de la pacienți este foarte similară cu osul uman, iar morfologia este foarte asemănătoare diferitelor tipuri de țesuturi osoase și a diverselor grefe osoase sintetice. Din studiul efectuat de aceștia rezultă că morfologia și compoziția calculilor renali este puternic influențată de condițiile de precipitare, condiții care pot varia în domenii largi de concentrații pe parcursul formării acestora.

Pentru determinarea compoziției unor calculi, cercetători precum Kaloustian [165] au utilizat analiza chimică pentru ionii și moleculele conținute în calculii respectivi (calciu, magneziu, amoniu, fosfat, carbonat, oxalat, acid oxalic, etc.), însă pentru a obține mai multe informații a utilizat și alte tehnici: spectroscopia FT-IR (cel mai des utilizat), spectroscopia Raman, difracția de raze X, analiza termică și microscopia electronică de baleiaj. Datele obținute cu ajutorul acestor metode de analiză au fost comparate și confirmate de etaloane (COM, COD, AU, MAPH).

Slojewski și colaboratorii [166] au studiat microelementele ce se pot găsi în calculii renali. Conținutul unui calcul a fost determinat utilizând SAA, spectrofotometria și metoda colorimetrică. Conform rezultatelor obținute aceștia au găsit o corelare între concentrația de Na, K, Mg, Ba, V, Zn, Si, P și I în pietre de fosfat.

Joost și colaboratorii [167] au găsit concentrații mari de Fe, Sb, Sr și Zn în calculii de tip oxalat de calciu; Fe, As și Zn în calculii de tip fosfați și Sb și As în pietre de tip AU. Acest rezultat poate fi explicat prin efectul de izomorfism heterogen, ce reprezintă introducerea unui element străin într-o rețea cristalină de sare. Aceeași transformare s-a observat în cristalele de apatită în care ionul de fosfor poate fi înlocuit de cel de arsen.

Bozin și colaboratorii [168], după o analiză a distribuției a 7 metale în 78 de calculi, a arătat un procent ridicat de Zn și Sr în calculi de tip fosfat și spre deosebire de rezultatele lui Joost, o proporție mai mică a acestor elemente în calculi de tip oxalat de calciu.

Studiile lui Bird și Thomas [169] și ale lui Atakan [170] au arătat că nivelul scăzut al Zn în urină sugerează potențialul acestuia de a avea o acțiune inhibitoare asupra procesului de formare a calculilor.

Toate aceste numeroase cercetări precum și altele nementionate în acest studiu nu au reușit decât o clarificare a unor aspecte, o descifrare parțială a procesului complicat al litogenezei, însă în prezent se efectuează studii complexe, interdisciplinare, ce au ca scop elucidarea integrală a multiplelor mecanisme ce conduc la formarea calculilor reno-urinari.

În continuare vor fi abordate metodele fizico-chimice utilizate în cadrul tezei de doctorat la analiza chimică a calculilor reno-urinari.

4.2. Metode termice de analiză

Metodele termice de analiză sunt introduse în clasa metodelor cu ajutorul cărora se urmărește variația unuia sau mai multor parametri fizici sau proprietăți caracteristice ale unui sistem (solid) în funcție de modificarea temperaturii acestuia.

Dintre metodele termice de analiză care oferă cele mai multe informații în vederea cercetării unor fenomene ce au loc atunci când se răcește sau se încălzește un compus (solid) sunt: analiza ATG, DTG, analiza termică diferențială (ATD) și calorimetria diferențială (DSC) [171].

Utilizarea metodelor termice de analiză este vastă atât în cercetare cât și în producție. Cu puține excepții, aproape toate combinațiile, fie naturale fie artificiale suferă o serie de modificări în urma încălzirii sau răcirii, conducând la rezultate ce pot fi folosite la determinări analitice calitative și cantitative.

4.2.1. Analiza termogravimetrică (ATG)

Termogravimetria (TG) constă în urmărirea variației masei substanțelor în funcție de temperatură și/sau de timp ($m=f(T)$, $m=f(t)$).

În funcție de modul în care se programează variația parametrului temperatură se disting:

a) tehnica dinamică sau neizotermă care urmărește variația masei în condițiile dependenței temperaturii de timp $T=f(t)$ după o anumită lege (cel mai frecvent se utilizează programele liniare de temperatură când proba se încălzește sau se răcește cu viteză constantă (figura 4.1.a)

b) tehnica statică sau izotermă în care temperatura se menține constantă, iar modificările masei probei, ca urmare a descompunerii, volatilizării, oxidării sau reducerii etc. sunt înregistrate în funcție de timp (figura 4.1.b).

Utilizarea uneia sau alteia dintre tehnici a cunoscut o aplicare largă la studiul cineticii proceselor termice a substanțelor solide.

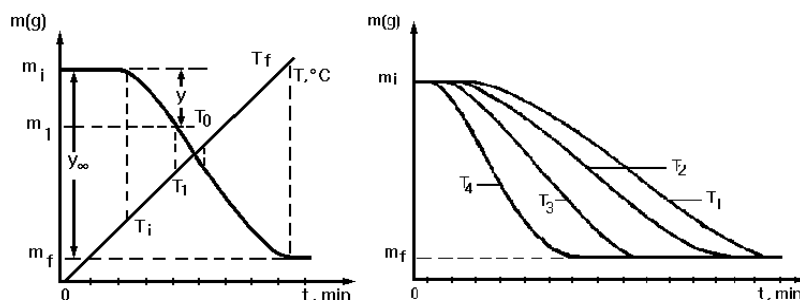


Fig. 4.1 Curba termogravimetrică în regim neizoterm(a); Curba termogravimetrică în regim izoterm(b)

Forma tipică a unei curbe TG înregistrată în regim dinamic prezintă următoarele puncte caracteristice: T_i – temperatura inițială la care se înregistrează o variație decelabilă a masei probei; T_f – temperatura finală la care masa este constantă; T_{opt} – temperatura optimă care corespunde vitezei maxime de desfășurare a procesului cu variație de masa.

Ordonata "y" a curbei ATG este proporțională cu masa componentei sau componentelor volatile eliminate de la începerea reacției până în momentul considerat, iar " y_∞ " reprezintă variația totală a masei în decursul reacției.

Cunoașterea gradului de descompunere (transformare) α permite efectuarea de studii cantitative referitoare la stoechiometria și cinetica reacției ($\alpha = y / y_\infty$; unde $0 \leq y \leq y_\infty$; $0 \leq \alpha \leq 1$).

Compușii care prin descompunere conduc la eliminarea succesivă a mai multor componente volatile prezintă TG caracteristice prin tot atâtea paliere intermediare [171, 172].

4.2.2 Analiza termogravimetrică derivată (DTG)

Un proces important în tehnica termogravimetrică s-a înregistrat prin elaborarea termogravimetriei derivate (DTG).

DTG este tehnica prin care se obține derivata unei curbe termogravimetrice (TG) în funcție de timp: $dm/dt = f(t)$; în acest caz se trasează curba variației temperaturii probei în funcție de timp: $T = g(t)$, sau în funcție de temperatură $dm/dt = f'(T)$.

Efectele termice care sunt înregistrate pe curba DTG indică mai exact temperaturile de începere (T_i) și terminare (T_f) a procesului termic, precum și temperature la care modificarea de greutate decurge cu viteză maximă, respective temperature corespunzătoare vârfului picului dat de efectul termic (T_{opt}), figura 4.2.

Pe curba TG, variațiile de masă (corespunzătoare la mai multe procese) care au loc în domenii foarte apropiate de temperatură nu pot fi delimitate întotdeauna, înregistrându-se astfel sub forma unei variații unice, ca și cum ar fi determinate de un singur proces.

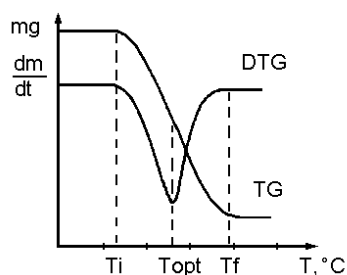


Fig. 4.2. Compararea curbelor TG și DTG

Pe curba DTG aceste efecte sunt despărțite prin maxime ascuțite, indicând astfel câte fenomene termice au participat la modificarea greutății [171].

4.2.3. Factorii care afectează rezultatele obținute cu ajutorul metodelor termice studiate

Natura, precizia și acuratețea rezultatelor metodelor termice de studiu sunt puternic influențate de un mare număr de parametri operaționali, fiind legate de factorii instrumentali și de caracteristicile probei [171].

Viteza de încălzire. Creșterea vitezei de încălzire se manifestă prin: deplasarea proceselor termice (implicit a curbelor termice) spre temperaturi mai mari (în special T_f) suprapunerea efectelor termice apropiate (pe curba TG variația masei nu are loc distinct) iar pe curba DTA (DSC) vîrfurile picurilor sunt mai înguste, ceea ce favorizează separarea unor procese apropiate. În funcție de natura și succesiunea proceselor care au loc există o viteză optimă de determinare.

Atmosfera cuptorului, dinamică sau statică influențează procesele datorită faptului că acestea presupun prezența unora sau mai multor faze gazoase. În funcție de caracterul inert oxidant sau reducător al atmosferei, unele procese se desfășoară sau nu [173].

Masa (cantitatea) de probă. Datorită transferului de căldură care are loc și difuziei produșilor volatili, creșterea masei probei conduce la scăderea rezoluției, iar intervalele de temperatură în care se desfășoară procesele cresc, în special prin creșterea lui T_f . [173].

Din punct de vedere **calitativ**, identificarea compușilor este posibilă prin înregistrarea în condiții identice a probei necunoscute și a compusului presupus. Comparând curbele TG și DTG din punct de vedere al formei, modificărilor care au loc, asocierea acestora cu reacțiile presupuse, stoechiometria reacțiilor și completarea acestora cu rezultatele altor metode conduc la identificarea compusului studiat.

Reacțiile corespunzătoare pierderii de masă pot fi cel mai bine confirmate când simultan se face și analiza de gaze eliminate (AGE), de exemplu dozarea gazelor CO, CO₂, etc..

Din punct de vedere **cantitativ** cu ajutorul termogravimetriei și termogravimetriei derivate pot fi studiate atât fenomene fizice cât și chimice cu variație de masă, cum ar fi:

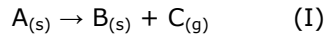
- determinarea umidității și a conținutului de substanțe volatile;
- determinarea concentrațiilor unor ioni din amestec;
- compoziția unei substanțe pure;
- puritatea unui compus;
- stoechiometria unei reacții;
- dozarea simultană a mai multor componenți;
- punerea în evidență a compușilor intermediari care apar în timpul descompunerii;
- determinarea stabilității termice relative;

4.3. Interpretarea cinetică a datelor de analiză termogravimetrică

Metodele termogravimetrice se pretează la studiul cinetic al reacțiilor eterogene ce au loc cu modificarea masei sistemului supus analizei. Studiul cinetic de reacție poate fi realizat fie izoterm fie neizoterm. Pe baza studiului cinetic se poate caracteriza stabilitatea termică a unei substanțe, de asemenea datele cinetice sunt esențiale pentru descrierea oricărui gen de mecanism, în care descompunerea termică are loc, analiza cinetică fiind în legătură directă cu mecanismul de

descompunere. Prin cunoașterea mecanismului de descompunere se pot presupune ecuațiile cinetice sau invers, analiza cinetică constituind punctul de plecare pentru a presupune mecanismele descompunerii termice [172].

Descompunerile solidelor aparțin reacțiilor cu participarea fazelor solide, reprezentate prin ecuația chimică generală:



Pe baza curbei TG se calculează gradul de conversie α al reacției, la un moment dat, prin raportul: $\alpha = y/y_{\infty}$ (fig. 4.2.), se poate introduce în continuare viteza de reacție (v), definită ca variația gradului de conversie în unitatea de timp:

$$v = da/dt \quad (4.1)$$

Conform legii acțiunii maselor, viteza reacției generale (I) are forma:

$$v = k(1-\alpha)^n \quad (4.2)$$

unde: k este constanta de viteză sau constanta cinetică; n - este ordinul de reacție (noțiunea de ordin de reacție se folosește doar formal).

Din ecuațiile 4.1. și 4.2 se obține ecuația cinetică diferențială:

$$\frac{d\alpha}{dt} = k(1-\alpha)^n \quad (4.3)$$

care prin integrare în domeniile $(0, \alpha)$ și $(0, t)$ conduce la ecuațiile cineticii integrale:

$$\frac{1 - (1-\alpha)^{1-n}}{1-n} = k \cdot t \quad \text{pentru } n \neq 1 \quad (4.4)$$

$$-\ln(1-\alpha) = kt \quad \text{pentru } n = 1 \quad (4.5)$$

Dependența constantei cinetice (k) de temperatură este dată de ecuația lui Arrhenius:

$$k = Ae^{-\frac{E}{RT}} \quad (4.6)$$

în care: A este factorul preexponențial; E = energia de activare; R = constanta gazelor perfecte; T = temperatura absolută, K.

În ceea ce privește forma ecuațiilor cinetice 4.4 și 4.5 acestea sunt riguros valabile în cinetica omogenă, utilizarea lor în cinetica eterogenă fiind justificată doar într-un număr limitat de cazuri.

Astfel, pornind de la fenomenele de formare a germenilor fazei noi (nucleație) și de creștere a germenilor, precum și de la considerarea reacțiilor limitate de difuzia în fază solidă, au fost stabilite ecuațiile cinetice diferențiale și integrale proprii reacțiilor cu participarea fazelor solide.

Pentru un proces de tipul (I), expresia vitezei de reacție este:

$$\frac{d\alpha}{dt} = k(T)f(\alpha) \quad (4.7)$$

unde: $f(\alpha)$ este o funcție de conversie a cărei formă (expresie) depinde de mecanismul descompunerii și de etapa limitativă a proceselor fizice care însoțesc reacția;

4.3.1. Calculul parametrilor cinetici în regim neizoterm

Majoritatea metodelor neizoterme utilizează programe liniare de temperatură, caracterizate prin menținerea constantă a vitezei de încălzire.

Metodele neizoterme de calcul se clasifică din punct de vedere al metodelor de determinare a parametrilor cinetici în:

- metode integrale – care utilizează datele oferite de curba TG;
- metode diferențiale – care implică determinarea vitezei de variație a greutateii;
- metode ce utilizează diferențele dediferențiale;
- metode bazate pe utilizarea unor programe de încălzire neliniare sau ciclice;
- metode speciale.

4.3.1.1. Metode liniare izoconversionale

Metodele izoconversionale nu necesită cunoașterea funcției de conversie (modelul cinetic) și folosesc curbele $\alpha = f(T)$ obținute pentru diferite viteze de încălzire, considerându-se că valorile parametrilor cinetici nu depind de viteza de încălzire. Acest tip de metode se poate clasifica în metode izoconversionale *liniare* și *neliniare*. În cazul metodelor liniare, E se determină din panta unei drepte (dependența lui E de α), în schimb în cazul celor neliniare, E se determină dintr-o condiție de minim.

Fiecare metodă în parte (atât liniară cât și neliniară) cuprinde metode diferențiale (bazate pe ecuația vitezei de reacție), respectiv metode integrale (folosesc expresia integrată a ecuației vitezei de reacție și o aproximație a integralei de temperatură).

A. Metoda Friedman (Fd)

Metoda izoconversională diferențială Friedman [174] are la bază ecuația generală a vitezei de reacție:

$$\beta \frac{d\alpha}{dT} = Af(\alpha) \exp\left(-\frac{E}{RT}\right) \quad (4.10)$$

care prin logaritmare devine:

$$\ln\left(\beta \frac{d\alpha}{dT}\right) = \left(-\frac{E}{RT}\right) + \ln[Af(\alpha)] \quad (4.11)$$

Indicele α se referă la o anumită valoare a gradului de conversie.

Pentru $\alpha = \text{const.}$ și folosind diferite viteze de încălzire (β), prin reprezentarea grafică a $\ln\left(\beta \frac{d\alpha}{dT}\right)$ în funcție de $1/T$ se obțin o serie de drepte, din

a căror pantă se determină E . Familia de drepte (curbe) ale $\ln\left(\beta \frac{d\alpha}{dT}\right)$ funcție de $1/T$ pentru diverse valori ale lui α constituie diagrama Friedman. În unele cazuri, reprezentările grafice nu conduc la drepte, ceea ce se întâmplă în cazul în care

odată cu creșterea vitezei de încălzire intervine o modificare a mecanismului de reacție sau a etapei determinate de viteză [175].

B. Metoda Flynn-Wall-Ozawa (F-W-O)

Metoda izoconversională integrală instituită independent de Flynn și Wall [176], și Ozawa are la bază ecuația integrală a vitezei de reacție (4.12) și aproximația Doyle pentru $p(x)$:

$$g(\alpha) = \frac{A}{\beta} \int_0^\alpha \left[\exp\left(-\frac{E}{RT}\right) \right] dT \equiv \frac{AE}{\beta R} p(x) \quad (4.12)$$

$$\ln p(x) = -5,331 - 1,052x$$

unde: $g(\alpha) = \int_0^\alpha \frac{d\alpha}{f(\alpha)}$ este funcția de conversie integrală și $x = \frac{E}{RT}$.

$$\text{Prin logaritmare se obține: } \ln \beta = \ln \frac{AE}{Rg(\alpha)} - 5,331 - 1,052 \frac{E}{RT} \quad (4.13)$$

Rezultă că pentru $a = \text{const.}$, reprezentarea grafică a $\ln \beta$ în funcție de $1/T$, înregistrată la mai multe viteze de încălzire, trebuie să fie o dreaptă din a cărei pantă să se poată determina energia de activare, E .

Familia de curbe obținută din reprezentarea grafică a $\ln \beta$ în funcție de $1/T$, pentru diverse valori ale lui a , se numește diagrama Flynn-Wall-Ozawa (F-W-O). O astfel de comportare are loc atunci când odată cu creșterea vitezei de încălzire intervine o modificare a mecanismului de reacție sau a etapei determinante de viteză.

4.4. Spectroscopia în infraroșu cu transformare Fourier (FT-IR)

În spectroscopia cu transformare Fourier radiația IR emisă de sursă nu este dispersată după frecvențe la trecerea prin probă, ci toate componentele sale cad simultan (nu secvențial, ca în spectroscopia dispersivă) pe detector, după ce mai întâi, cu ajutorul unui interferometru Michelson se crează o diferență de fază între două fascicule care, prin reunire, crează franje de interferență caracteristice probei studiate, a căror intensitate este măsurată de detector. FT-IR poate fi conectată cu alte metode fizico-chimice cum ar fi cromatografia de gaze (GC/FTIR), spectrometria de masă (MS/FTIR) sau analiza termică (TGA/FTIR) pentru identificarea componenților din probe complexe.

Această metodă oferă datele direct sub formă digitală, ceea ce permite exploatarea posibilităților oferite de calculator, listarea automată a principalelor benzi de absorbție.

Toate aceste avantaje aduc noi aplicații atât în cercetarea structurală cât și în analiza chimică [177, 178].

Analiza calitativă - identificarea caracteristicilor structurale.

Spectrometria IR prezintă o importanță deosebită pentru identificarea compușilor necunoscuți și pentru investigarea caracteristicilor structurale.

Fiecare combinație chimică (organică și anorganică) are un spectru caracteristic în IR, ceea ce înseamnă că pe baza unui spectru etalon (catalog de spectre) se pot efectua cercetări de puritate, identificări, dozări, se poate urmări desfășurarea reacțiilor chimice prin dispariția unor benzi caracteristice reactanților și apariția unor benzi ale produșilor de reacție, pot fi efectuate determinări cinetice, calculate randamente de reacție, etc.

Metodologia de interpretare este în general bazată pe **compararea** spectrului substanței investigate cu spectrul ei etalon găsit în cataloage speciale și atribuirea benzilor din spectru unor anumite frecvențe de grup.

Spectrele IR prezintă o importanță deosebită în studiul formării și caracterizării combinațiilor complexe, în special prin urmărirea modificării benzilor caracteristice unor grupe funcționale din moleculele liganzilor (înainte și după complexare).

Analiza cantitativă. Absorbția în regiunea IR este de așteptat să respecte legea Lambert-Beer pentru benzi bine conturate și în absența unor efecte chimice. Fiecare substanță trebuie să aibă cel puțin o bandă caracteristică suficient de intensă, neperturbată de alte benzi ale unor componenți prezenți sau ale solventului.

Analiza cantitativă în IR este mai puțin utilizată decât în UV-VIZ pentru că tehnica este mai puțin sensibilă și mai puțin precisă [177].

4.5. Difractometria de raze X

Proprietățile fizice ale materialelor se datorează structurii acestora. În cristalografie, prin structura substanței se înțelege dispunerea concretă în spațiu a particulelor care se formează: atomi, ioni, molecule.

Un rol important în identificarea și caracterizarea structurii atomice și moleculare a materialelor o au metodele de analiză cu radiație X. La baza acestor metode se află procesele de interacțiune ale radiațiilor X cu substanța: absorbția, împrăștierea și difracția. Radiațiile X sunt unde electromagnetice transversale, care au lungimi de undă cuprinse în domeniul $100 \div 0,1 \text{ \AA}$.

Deoarece lungimea de undă a radiației Röntgen este de același ordin de mărime cu distanțele dintre nodurile rețelelor cristaline ea a găsit o aplicație deosebită la studiul structurii cristalelor prin efecte de difracție și interferență.

Spectrul de difracție de raze X se obține datorită interferenței radiației emise de atomii cristalului. Analiza spectrului de difracție permite să se stabilească structura spațială a cristalelor, compoziția chimică a acestora și coordonatele atomilor în celula elementară.

Difracția pe pulberi este una dintre cele mai folosite metode de analiză structurală cu radiații X, deoarece foarte multe materiale naturale și sintetice se află în stare policristalină. Problema principală a analizei de fază **calitativă** constă în determinarea fazelor cristaline existente în proba analizată.

Spectrul de difracție al unei probe care conține mai multe faze reprezintă superpoziția spectrelor de difracție ale fazelor care intră în compoziția probei. Fiecare fază cristalină dă spectrul ei de difracție, indiferent de prezența celorlalte faze din probă. Ea se caracterizează prin parametri proprii ai celulei elementare ($a, b, c, \alpha, \beta, \gamma$) și prin coordonatele (x_i, y_i, z_i) ale atomilor din celula elementară. Valorile distanțelor interplanare d_{hkl} și a intensităților liniilor de difracție I_{hkl} depind de parametrii celulei elementare și de coordonatele atomilor din celula elementară.

Spectrul RX reprezintă rezultatul grafic al unei analize de difracție cu raze X, în care apar, la anumite unghiuri, liniile caracteristice diferitelor faze cristaline existente în probă. Analiza spectrului de difracție permite să se stabilească structura spațială a cristalelor, compoziția chimică a acestora și coordonatele atomilor în celula elementară [179].

4.6. Spectrometria de absorbție atomică

Spectrometria de absorbție atomică (SAA) constă în absorbția radiației electromagnetice specifice emisă de către atomi în domeniul UV-VIS rezultând spectrul atomic în urma modificării structurii electronice. Radiația absorbită este caracteristică elementului de determinat aflat sub formă de vapori atomici. Metoda se folosește la determinarea în urme a ionilor metalici din sărurile lor sau din compuși metal-organici (0,01 – 1 ppm) [171].

PARTEA II

PARTEA EXPERIMENTALĂ

1. Introducere

Cunoașterea compoziției calculilor reno-urinari este de un real ajutor în stabilirea cauzelor care stau la baza bolilor urolitiazice și încercarea de a preveni recidivarea acestora.

Din literatura de specialitate s-a constatat că pentru determinarea compoziției și structurii calculilor sunt utilizate o serie de metode și procedee (microscopie optică, analiza chimică pe cale uscată și umedă, metode fizico-chimice de analiză) prin care se pot obține informații și rezultate mai mult sau mai puțin exacte.

În teză au fost utilizate metode fizico-chimice: analiza termică, spectroscopia FT-IR și difractometria de raze X, care au generat rezultate prin a căror coroborare s-au obținut informații cu privire la structura și compoziția calculilor. Pentru determinarea de metale din compoziția calculilor a fost utilizată spectrometria de absorbție atomică (SAA), iar pentru analiza morfologică și dimensională a particulelor s-a utilizat microscopia electronică de baleiaj (SEM).

În partea finală a tezei a fost abordat un studiu de implementare a rețelelor neurale artificiale (ANN) privind predicția compoziției calculilor reno-urinari.

2. Metode experimentale

S-au investigat un număr de 84 de calculi de la pacienți internați la Spitalul Universitar Timișoara, Clinica de Urologie și de la spitalul Județean din Craiova. Calculii studiați au fost prelevați de la pacienți atât în urma unor intervenții chirurgicale cât și prin eliminare spontană a acestora.

După prelevare, calculii au fost spălați cu apă, apă distilată și alcool etilic, apoi uscați în etuva la temperatura de 35 °C și păstrați în exicator până la etapa de evaluare. Au fost făcute investigații cu privire la aspect, culoare, formă, structură morfologică, reacții chimice calitative pe cale umedă și uscată și au fost grupați astfel:

- calculi unari de tip oxalat: 24
- calculi unari de tip fosfat: 7
- calculi unari de tip urat: 5
- calculi micști: 48

În urma unor analize fizico-chimice preliminare, au fost selectați 18 calculi de compoziții cât mai diferite, care au fost supuși analizei termice, analizei spectrometrice FT-IR, difracției de raze X, microscopiei electronice de baleiaj, urmărindu-se limitările și performanțele acestor metode în determinarea compoziției și structurii calculilor (simpli și/sau micști).

Tehnici experimentale

- *Curbele termoanalitice* au fost înregistrate cu o termobalanță TGA/SDTA 851^e Mettler-Toledo (Fig. II.1.) în următoarele condiții:
 - domeniul de temperatură de 25 – 1000 °C;
 - viteza de încălzire de 5° C/min, pentru toate probele;
 - viteza de încălzire (β): 3; 5; 7 și 10 °C/min, pentru determinări cinetice;
 - creuzete de platină;
 - masa probelor, în domeniul 15,0- 40,0 mg;
 - atmosferă: curent de azot (99 %) cu debitul de 20 mL/min.

Fig.II.1. Termobalanța TGA/SDTA 851^e Mettler-Toledo

- *Măsurătorile spectroscopice în infraroșu* cu transformata Fourier au fost realizate utilizând un spectrometru Shimadzu Prestige-21 (Fig. II.2.). Probele au fost pregătite sub formă de pastile în KBr. Spectrele FT-IR au fost înregistrate în domeniul $400-4000\text{ cm}^{-1}$ cu o rezoluție spectrală de 4 cm^{-1} .



Fig.II.2. Spectrometrul FT-IR Shimadzu Prestige-21

- *Difractogramele cu radiații X* ale probelor analizate au fost achiziționate cu ajutorul unui difractometru DRON-UM1 (Fig.II.3.) în geometrie Bragg-Brentano. Condițiile de achiziție au fost următoarele :
 - montaj theta-2 theta;
 - tensiunea de lucru $U = 40\text{ kV}$;
 - intensitatea curentului $I=30\text{ mA}$;
 - interval unghiular $2\theta: 10^{\circ}-70^{\circ}$, $\Delta(2\theta)=0,05^{\circ}$;
 - durata de achiziție pe pas – 2 secunde;
 - radiație CuK_{α} , monocromator cu cristal de grafit pe fasciculul difractat.



Fig.II.3. Difractometrul DRON-UM1

Imaginile SEM au fost realizate cu ajutorul unui microscop electronic Inspect S FEI Company (Fig.II.IV.), în vid înaintat. Calculul de analizat a fost mojarat, dispersat în alcool etilic și ultrasonat. Suspensiile obținute au fost depuse pe plăcuțe de sticlă. Pentru analiza, după evaporarea alcoolului, pe plăcuțele pe care se află proba a fost depus un strat de 100 nm de Ag.



Fig.II.IV. Microscopul electronic Inspect S FEI

- Determinările analitice prin spectrometrie de absorbție atomică a metalelor alcaline (Na, K), alcalino-pământoase (Ca, Mg), metale în urme (Fe, Cu, Zn, Mn) și a Pb (metal cu potențial toxicogen) din compoziția calculilor s-au efectuat cu un spectrofotometru de absorbție atomică Varian AA 300 (Fig.II.5.). Domeniul spectral al instrumentului se extinde pe domeniul 189 – 855 nm. Drept surse pentru radiația de rezonanță (caracteristică fiecărui element) s-au utilizat lămpi cu catod scobit, în interiorul cărora se află gaze inerte, foarte pure la joasă presiune (4 – 12 tori). S-a utilizat o flacără aer-acetilenă cu un debit de aer de 13,50 L/min și un debit de acetilenă de 2,00 L/min. Determinările s-au făcut la lungimile de undă specifice fiecărui element: $\lambda_{\text{Na}} = 588,99 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{K}} = 766,49 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{Ca}} = 422,67 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{Mg}} = 285,21 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{Fe}} = 248,32 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{Cu}} = 324,75 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{Zn}} = 213,85 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{Mn}} = 279,48 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{Pb}} = 217 \text{ nm}$.



Fig.II.V. Spectrometrul de absorbție atomică Varian AA 300

- Predicția compozițională a folosit o *rețea neuronală* cu trei straturi feed-forward cu o funcție de transfer sigmoidală în stratul ascuns și o funcție de transfer liniară în stratul de ieșire. Aplicația software a fost scrisă în Turbo C (Borland International).

3. Evaluarea primară a calculilor

Cei 84 de calculi au fost investigați morfologic și chimic (pe cale uscată și umedă), fiind clasificați din punct de vedere calitativ.

3.1. Evaluarea morfologică

Studiul morfologic al calculilor este fundamental permițând precizarea originii acestora și dereglarea metabolică inițială. Calculii pot fi împărțiți în trei familii chimice principale conform tabelului II.1.

Tabel II.1. Cele trei familii chimice de calculi urinari

Oxalați	Oxalat de calciu monohidrat (whewellite) Oxalat de calciu dihidrat (weddelite)
Urați	Acid uric anhidru Acid uric dihidrat Urat acid de amoniu
Fosfați	Fosfat de calciu carbonat (carbapatita) Fosfat de amoniu și magneziu hexahidrat (struvit) Hidrogenfosfat de calciu dihidrat (bruscit) Fosfat de calciu și magneziu (whitlockit) Fosfat amorf de calciu

Tabelul II.2. arată importanța analizei morfologice prin care se pot determina potențialele patologii prin evocarea cauzelor biochimice.

S-au înregistrat imaginile de microscopie optică pentru calculii selectați, atât pentru exterior cât și în secțiune. În figurile II.6 – II.12 se prezintă imaginile pentru calculi de diferite naturi.

Figurile II.6-II.8 corespunzătoare **calculilor de oxalat de calciu** evidențiază o culoare de la alb-gălbui până la negru-cărmiziu datorită pigmentilor sangvini rezultați din hemoragiile pe care le determină. Suprafața lor este dură, cu aspect de mură (oxalat de calciu monohidratat) sau cu structură cristalină vizibilă la exterior (oxalat de calciu dihidratat). În secțiune transversală se evidențiază o structură cristalină sau granulară, uneori în zone concentrice. Calculi oxalalici de dimensiuni mai mari au o colorație mai deschisă, sunt rotunzi cu multe asperități (aspect de arici) și extrem de duri – radioopaci, nuriiformi, adesea în calice, pH normal, sediment urinar cu cristale specifice, hipercalcemie și hiperoxalurie [178, 180].

Tabel.II.2. Analiza morfologică a calculilor urinari

Tip	Compoziție chimică	Morfologie		Interpretare clinică
		Aspect periferic	Aspect în secțiune	
Ia	COM: oxalat de calciu monohidrat (whewellite), $\text{Ca}(\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Mamelonat, prezintă ombilicări Brun închis	Benzi concentrice cu striatții radiale, brun închis	Hiperoxalurie intermitentă, maladia Cacchi Ricci
Ib	COM: oxalat de calciu monohidrat (whewellite), $\text{Ca}(\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Rugos, mamelonat Fără ombilicări Brun închis spre negru-brun	Dezorganizat, uneori lacunar Brun închis	Hiperoxalurie cu stază urologică, hiperoxalurie veche
Ic	COM: oxalat de calciu monohidrat (whewellite), $\text{Ca}(\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Muriform, neted De culoare crem	Cristale prismatice mai mult sau mai puțin sudate, dezorganizate Brun deschis spre crem	Oxaloză, hiperoxalurie primară
Id	COM: oxalat de calciu monohidrat (whewellite), $\text{Ca}(\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Neted Brun, galben	Concentric cu straturi foarte fine fără cristalizare radial	Hiperoxalurie cu naștere anatomică bazată pe anomalii morfologice ale căilor urinare
IIa	COD: oxalat de calciu dihidrat (weddellite), $\text{Ca}(\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Cristale bipiramidale strălucitoare cu unghiuri ascuțite, Brun deschis, galben	Cristalizare radială, brun, galben deschis	Hipercalciurie
IIb	COM+COD	Cristale groase și terne cu unghi bont Beige crem	Dezorganizat, brun, galben deschis	Hipercalciurie intermitentă și hiperoxalurie
IIc	COD: oxalat de calciu dihidrat (weddellite), $\text{Ca}(\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Rugos Beige galbui	Concentric la periferie dar dezorganizat în centru, brun, galben mai mult sau mai puțin închis	Hipercalciurie cu stază
IIIa	Acid uric anhidru	Neted sau foarte puțin gofrat de la beige la portocaliu	Concentric cu cristalizare radial, ocru spre roșu	Hiperuricurie intermitentă Urină cu pH acid
IIIb	Acid uric anhidru + Acid uric dihidrat	Rugos, poros Crem spre roșu brun	Dezorganizat, compact, portocaliu spre roșu	Hiperuricurie Urină cu pH acid
IIIc	Urați	Rugos, poros, Crem spre brun	Dezorganizat, compact, gri spre brun	Hiperuraturie și alcalinizare terapeutică
IIId	Urat acid de amoniu	Rugos, poros, Gri spre brun	Dezorganizat, gri spre brun	Cu fosfați: diaree infecțioasă + carență de fosfor + hiperuricurie Cu struvit: hiperuricurie + infecție urinară cu germeni urici Cu acid uric: alcalinizare

				terapeutică
IVa1	Carbapatită, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4, \text{CO}_3\text{OH})_6 (\text{OH})_2$	Gofrat, crăpat, Brun gălbui	Friabil, concentric, alb spre beige	Infecție urinară, hipercalciurie, hiperparatiroidie primară, acidoză tubulară secundară
IVa2	Carbapatită + Proteine	Gofrat, rugos cu depuneri albe până la brun închis	Concentric în straturi de culori alternante, albe și brune	Probleme ale acidifierii renale
IVb	Carbapatită + Struvit + Urat acid de amoniu	Cristale lipite cu unghiuri puțin ascuțite Alb	Concentric în straturi de culori alternante, albe și brune	Infecție urinară cu alcalinizare
IVc	Struvit + Carbapatită	Rugos, ușor translucid Crem spre beige	Nedelușit, concentricitate și structură radial pufoasă albicioasă	Infecție urinară cu germeni urici
IVd	Fosfat acid de calciu dihidrat (bruscită), $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Granular sau gofrat, ceros, translucid Brun gălbui	Concentric radial, crem spre gri	Hipercalciurie, hiperparatiroidie, hiperfosfaturie
Va	Cistină	Mai mult sau mai puțin neted Crem spre galben	Radial galben spre brun deschis	Cistinurie
Vb	Cistină + Carbapatită	Adesea moale, neted, Alb spre brun	Benzi concentric, galbene în centru și albicioase la periferie	Cistinurie tratată prin alcalinizare
VIa	Proteine + Fosfați	Rugos, solzos Negru brun	Dezorganizat, brun spre albicios în diferite condensări	Pielonefrita
VIb	Proteine + diverși constituenți	Neted Negru brun	Friabil, cu aspect frunziform, culori variabile de la brun la negru	Litiază medicamentoasă și secreția proteinelor tubulare
VIc	Proteine + COM		Dezorganizat sau compus dintr-un înveliș proteic, cu conținut de elemente cristaline negru brune	Litiază renală

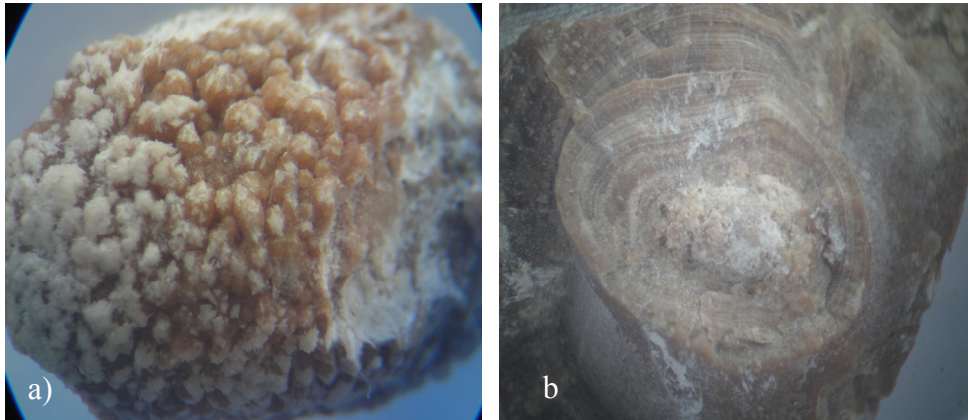


Fig II.6. Calcul de tip oxalat de calciu monohidrat: (a) exterior; (b) in sectiune

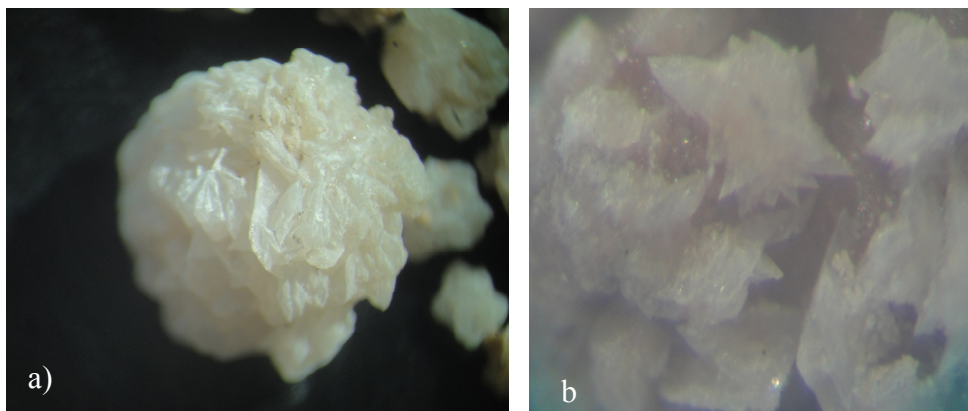


Fig II.7. Calcul de tip oxalat de calciu dihidrat: (a) exterior; (b) in sectiune

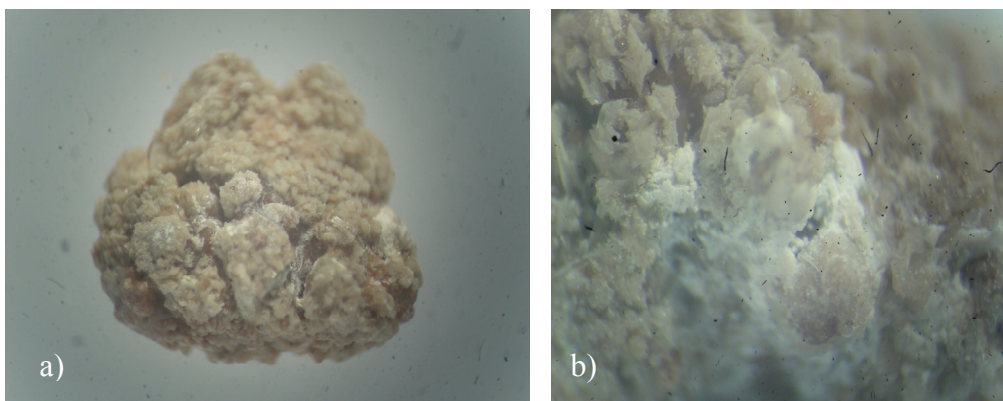


Fig II. 8. Calcul de tip amestec de oxalati: (a) exterior; (b) in sectiune

Calculii urici, alcătuiți din acid uric și urați alcalini (figura II.9.) prezintă o culoare galbenă până la roșu cărămiziu, suprafață rugoasă, sunt duri, denși și greu secționabili. Prin secțiune transversală se pun în evidență structuri concentrice fine. Nucleul central, adesea este format din alt component. Sunt rotunzi sau ovali, cu suprafață netedă, dimensiune variabilă (de la a unui „fir” de nisip la aceea a unui pumn de adult), aspect de sâmbure de curmală. Se formează de regulă în calice sau bazinet. În cazul unui pH acid, sunt prezente cristale de acid uric și acid uric crescut în urină.

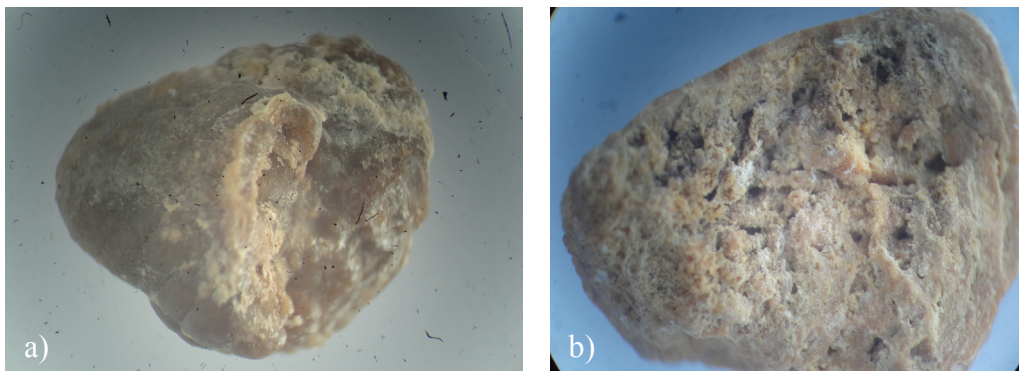


Fig II.9. Calcul de tip urat: (a) exterior; (b) in secțiune

Calculii de tip fosfat au culoarea alb-cenusie sau galben-cenusie, suprafața netedă sau nodulară, dimensiuni și forme variabile (fig II.10.). De obicei, acești calculi sunt voluminoși (coraliformi). Duritatea lor este medie. Secțiunea transversală pune în evidență o structură variată: lamelară, cristalină uneori poroasă. Calculii constituiți din fosfat de magneziu și amoniu hexahidrat (struvit) sunt de culoare alb-strălucitoare, de consistența moale, sfărâmițoși (fig II.11.).

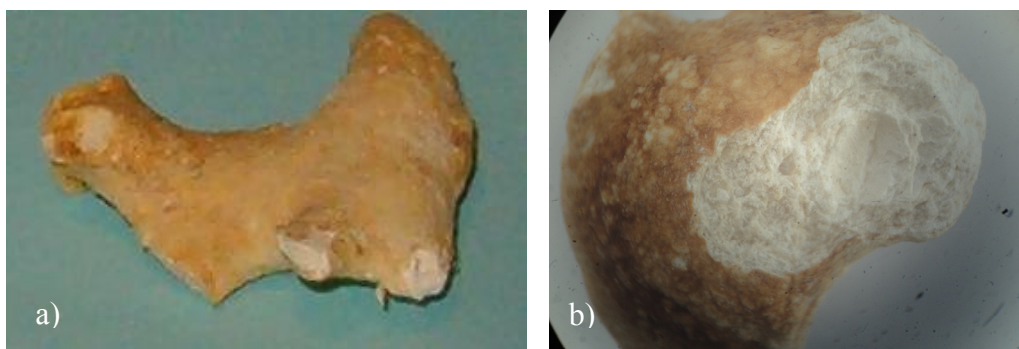


Fig II.10. Calcul de tip fosfat: (a) exterior (b) in secțiune

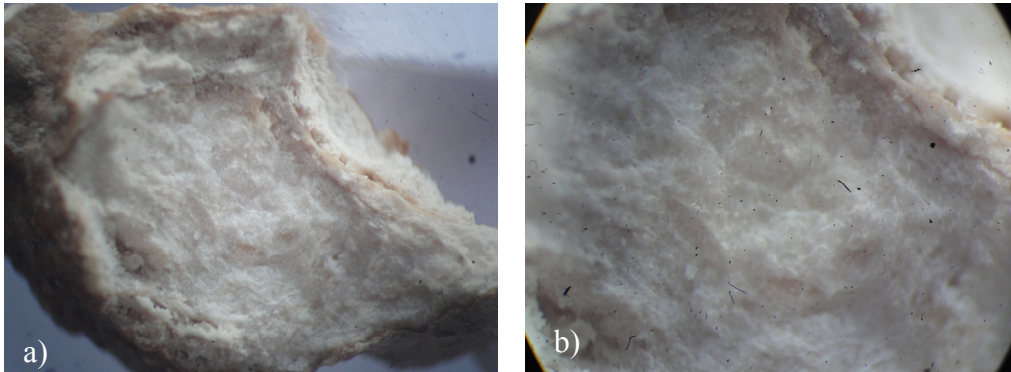


Fig II.11. Calcul de tip fosfat de magneziu si amoniu hexahidrat (struvit):
(a) exterior; (b) in sectiune

Calculii care contin amestecuri (ex. oxalat + fosfat, fig. II.12.) in proportii comparabile prezinta aspect si duritate intermediare comparativ cu calculii unari.



Fig II.12. Calcul de tip amestec de oxalat si fosfat: (a) exterior; (b) in sectiune

3.2. Analiza chimică

Deși analiza chimică a calculilor urinari a fost adesea neglijată în chimia clinică, totuși este importantă în vederea identificării acestora.

3.2.1. Analiza chimică pe cale uscată

Metodele calitative au fost predominante în investigarea uroconcrementelor timp de peste 100 de ani. În anul 1860, J. F. Heller [181] a propus un model schematic pentru investigarea chimică a calculilor. Metoda a fost bazată pe culoarea probelor, mirosul la arderea materialului pulverizat și pe un număr de reacții chimice realizate pe probele uscate (testul spot). Chiar și astăzi acest model este utilizat în

anumite laboratoare clinice. Deși metoda a suferit o serie de modificări, ea este disponibilă comercial sub formă de kit-uri, cu teste de rutină asupra compoziției calculului urinar.

Testul dry spot

La efectuarea testului dry spot sunt esențiale culoarea, forma, dimensiunea și consistența (duratea) calculului. Pentru efectuarea testelor dry spot sunt necesare cantități de aproximativ 50 mg de probă uscată, pulbere. După cântărirea probei, calculul trebuie spălat cu apă deionizată și apoi uscat total cu hârtie de filtru sau cu gel de silice [182, 183].

În cadrul tezei s-au realizat testele spot cu ajutorul kitului Temmler. Astfel, s-au identificat următorii ioni și componenți organici: oxalat, carbonat, fosfat, magneziu, amoniu, calciu și acid uric. Detectarea efervescentei CO₂-ului după adăugarea acidului clorhidric (HCl) la o cantitate redusă de pulbere de calcul a indicat prezența carbonatului în calculul urinar (carbonat de calciu sau carbonat apatită). În cazul calculilor din grupele de tip fosfați și oxalați la încălzirea acestora la temperatura ridicată s-a constatat că probele nu se carbonizează și lasă un reziduu alb-cenușiu pulverulent mai voluminos. La încălzirea calculilor din grupa de tip urați s-a constatat că nu rămâne reziduu sau rămâne o cantitate neînsemnată.

Datorită necesității unei cantități mari de substanță, metoda pe cale uscată a fost utilizată numai la calculi de dimensiuni mari.

În cazul acestui studiu s-au identificat și ionii de sodiu, potasiu și calciu cu ajutorul unei flăcări reducătoare a becului de gaz, știind că, prin încălzire, unele elemente chimice colorează în mod specific flacăra. Calculii au fost bine mojarăți, și proba a fost adusă în flăcăra utilizând un fir de platină, când culoarea flăcării a fost specifică fiecărui element prezent, așa cum reiese din tabelul II.3.

Tabel II.3. Rezultatele experimentale obținute la analiza calitativă a calculilor

Elementul	Colorația flăcării	Observații
Sodiu	Galben intens	În spectru apar numai benzi de culoare galbenă
Potasiu	Violet	În prezența sărurilor de sodiu această colorație violet este mascată de culoarea galbenă. Identificarea este dificilă în prezența sodiului
Calciu	Roșu- cărămiziu	În spectru se găsesc multe benzi colorate de la roșu la galben

3.2.2. Analiza chimică pe cale umedă

Prin analiza chimică pe cale umedă am urmărit confirmarea clasificării calculilor (realizată morfologic) în funcție de natura acestora.

Analiza chimică pe cale umedă se realizează în faza lichidă și se bazează pe determinări chimice calitative, precum modificarea culorii, dar adesea implică determinări chimice cantitative (gravimetrice, volumetrice).

În vederea identificării tipurilor de calculi s-au realizat următoarele experimente, care sunt prezentate schematic în figura II.13.

După uscarea probelor de calculi sub formă de pulberi (0,1 – 0,2 g) s-au adăugat 0,5 mL acid clorhidric HCl concentrat și 2 mL apă distilată, care s-au încălzit până la fierbere (existând posibilitatea dizolvării sau nedizolvării calculului).

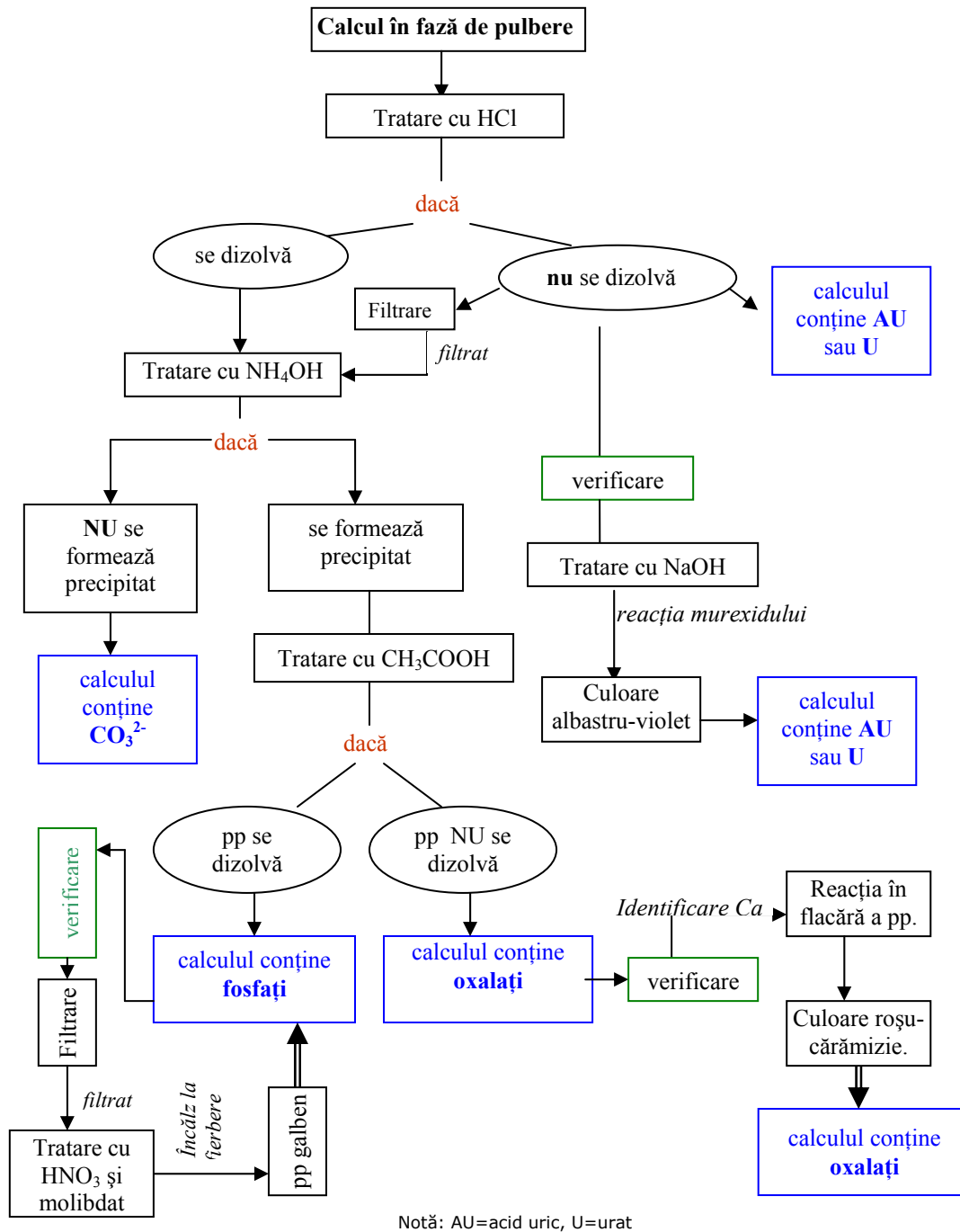


Fig. II.13. Schema evaluării calitative a calculilor prin analiza chimică pe cale umedă

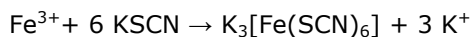
În cazul în care calculul *nu s-a dizolvat*, a rezultat că acesta este format din *acid uric* (AU) și/sau *urați* (U). În acest caz s-a verificat dacă există acid uric sau urați prin reacția murexidului, care constă în tratarea cu hidroxid de sodiu a porțiunii de pulbere de calcul rămasă nedizolvată în acid clorhidric. Apariția colorației albastru violet a indicat prezența acidului uric și a uraților.

Atunci când calculul s-a dizolvat, s-a adăugat hidroxid de amoniu (NH₄OH), existând posibilitatea formării sau nu a unui precipitat. În cazul în care *nu s-a format precipitat* a rezultat prezența carbonaților în compoziția calculului. În cazul în care *s-a format un precipitat*, s-a adăugat acid acetic. În funcție de comportarea precipitatului s-a putut spune dacă uroconcrementul este constituit din fosfat sau oxalat. Astfel, în cazul în care precipitatul *s-a dizolvat*, calculul a fost format din fosfați, în schimb, dacă precipitatul *nu s-a dizolvat*, calculul a fost format din oxalați. În acest caz s-a verificat dacă există fosfați prin reacția filtratului cu molibdat, când a rezultat o colorație galbenă, iar oxalatul s-a verifică prin reacția cu rezorcina.

Identificarea tipurilor de calcul s-a mai făcut utilizând și alte procedee:

- probe sub formă de pulbere au fost aduse la fierbere cu acid clorhidric concentrat, într-o eprubetă, când fosfatul și oxalatul s-au dizolvat, în timp ce calculii cu acidul uric nu s-au solubilizat. Detecția acidului uric s-a făcut prin încălzirea unei cantități mici de probă cu acid azotic concentrat, când a apărut o colorație roșie, ca urmare a transformării acidului uric în murexid [144].

Prin încălzire în mediu acid, o parte din calculii sub forma de pulberi au degajat miros de amoniac, fiind clasificați în categoria celor de tip fosfat (MgNH₄PO₄·6H₂O). De asemenea, a fost pusă în evidență prezența fierului în unele pudre de calculi prin tratarea acestora în soluție cu sulfocianura de potasiu (reactiv specific) [184], când s-a format o colorație roșu-sange datorită formării complexului hexasulfocianoferrat (III):



Pe baza rezultatelor analizei morfologice și utilizarea singulară a testelor calitative tip dry spot și analizelor chimice pe cale umedă nu se poate face o clasificare sigură a calculilor din punct de vedere al compoziției acestora.

4. Evaluarea compoziției și structurii calculilor prin metode fizico-chimice

Cei 18 calculi selectați au fost mojarati, pudrele obținute au fost sitate și împartite în cantități necesare studiului prin metodele de analiză propuse:

- a) Pentru analiza termică au fost înregistrate:
 - curbele termice (TG și DTG) pentru toți cei 18 calculi, în atmosfera de azot;
 - curbele termice (TG, DTG și DTA) în regim neizoterm, cu viteze diferite: 3, 5, 7 și 10 °C/min, pentru $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (etalon), calculul 1 și calculul 5 necesare studiilor cinetice.
- b) au fost înregistrate spectrele FT-IR pentru cei 18 calculi selectați;
- c) au fost înregistrate spectrele RX pentru cei 18 calculi;
- d) au fost înregistrate imaginile SEM pentru cei 18 calculi;
- e) au fost realizate analize de spectrometrie de absorbție atomică pentru 106 calculi în vederea determinării metalelor continute în compoziția acestora.

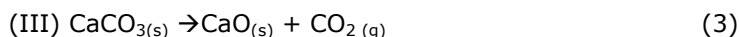
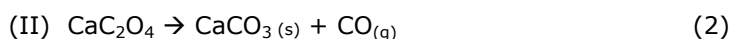
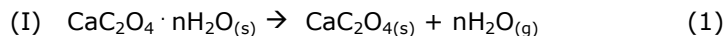
4.1. Analiza termică

Analiza termică este una dintre cele mai potrivite tehnici fizico-chimice pentru studiul de substanțe în stare solidă, oferind informații cu privire la transformările fizice și chimice ale substanțelor încălzite sau răcite în urma unui program stabilit de temperatură. Variațiile de masă cu temperatura furnizează informații utile pentru determinarea compoziției materialelor [185-188].

Cei 18 calculi selectați au fost numerotați în mod arbitrar cu numere de la 1 la 18. Calculii selectați au fost supuși analizei termice și au fost înregistrate curbele TG și DTG. Din evoluția curbelor termice prin comparare cu compusii puri (etalon – Anexa 1) s-a stabilit compoziția acestora.

Calculi de tip oxalat

În figurile II.14-II.21 sunt prezentate curbele TG și DTG ale calculilor de tip oxalat (1÷8). Forma curbelor termice confirmă faptul că, calculii contin oxalat de calciu. Curbele termice prezintă trei procese cu pierdere de masă: deshidratare ($-\text{H}_2\text{O}$), descompunerea CaC_2O_4 ($-\text{CO}$), precum și descompunerea CaCO_3 ($-\text{CO}_2$), cu formarea de CaO , în conformitate cu ecuațiile de mai jos [156]:



Pierderile de masă și masa reziduală oferă informații referitoare la puritatea și compoziția calculilor.

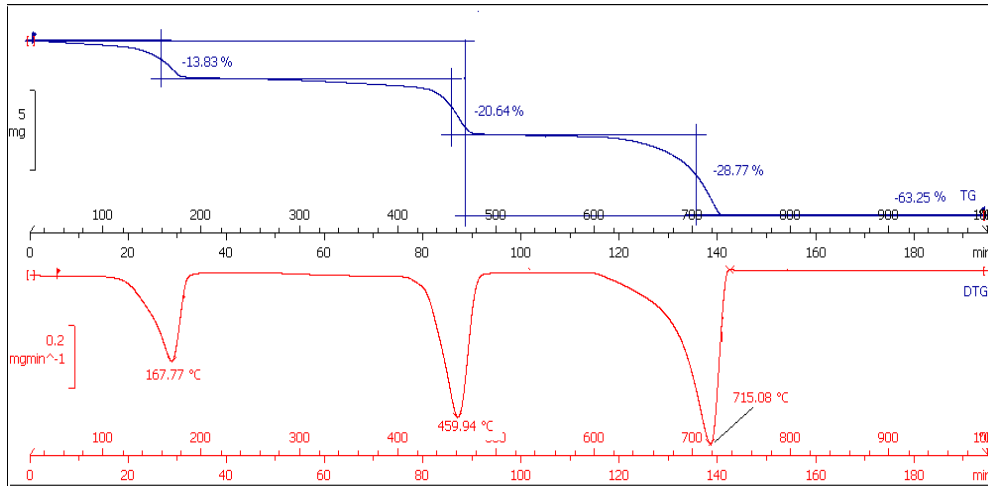


Fig II.14. Curbele TG si DTG pentru calculul 1

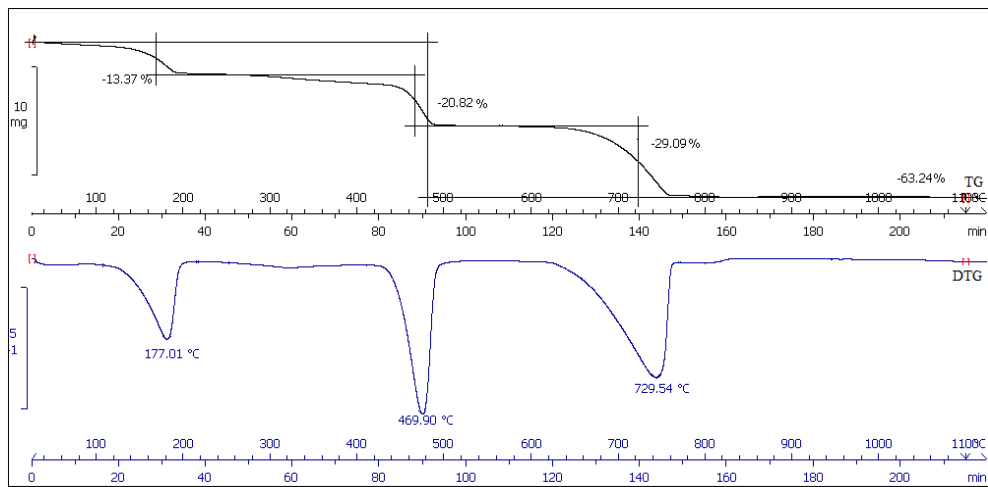


Fig II.15. Curbele TG si DTG pentru calculul 2

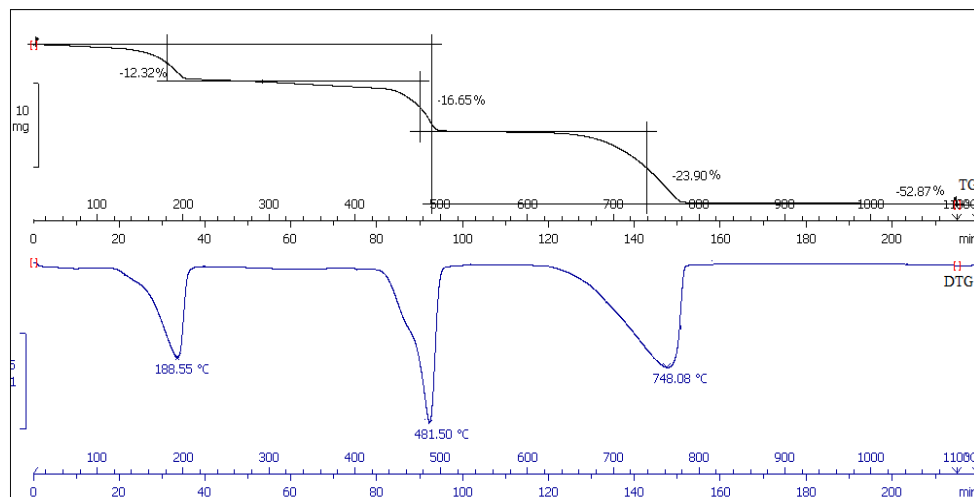


Fig II.16. Curbele TG și DTG pentru calculul 3

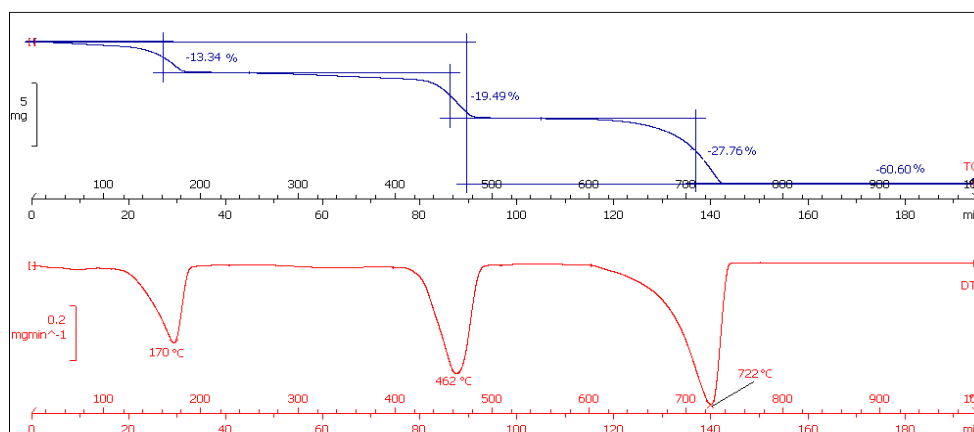


Fig II.17. Curbele TG și DTG pentru calculul 4

Curbele termice din figurile II.14-II.17 prezintă o evoluție similară, înregistrând cele trei procese caracteristice descompunerii termice a $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Variațiile de masă și masa reziduală corespundătoare calculilor 1 și 2 din figurile II.14 și II.15 sunt apropiate de cele teoretice corespunzătoare oxalatului de calciu monohidrat. Astfel, se poate afirma că cei doi calculi sunt constituiți din $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ [189].

Masa reziduală mai mare înregistrată în cazul calculilor 3 și 4 (figurile II.16 și II.17) sugerează prezența în compoziția calculilor a unei faze inerte.

Curbele termice din figurile II.18-II.21 (pentru calculii 5-8) prezintă o evoluție similară, înregistrând patru procese caracteristice descompunerii termice a $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

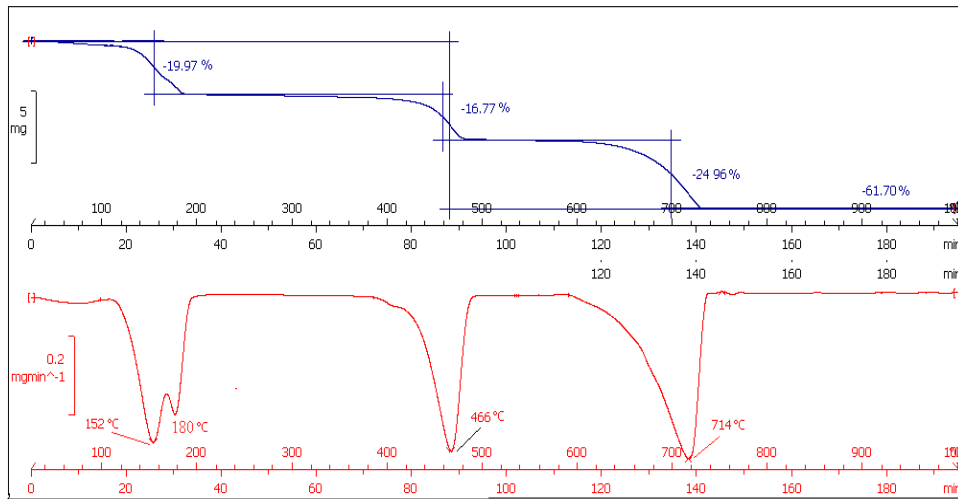


Fig II.18. Curbele TG și DTG pentru calculul 5

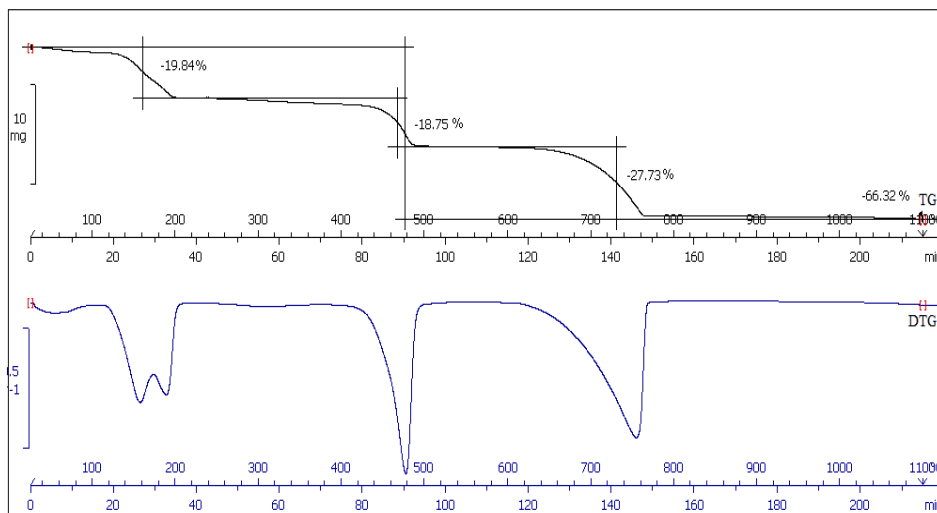


Fig II.19. Curbele TG și DTG pentru calculul 6

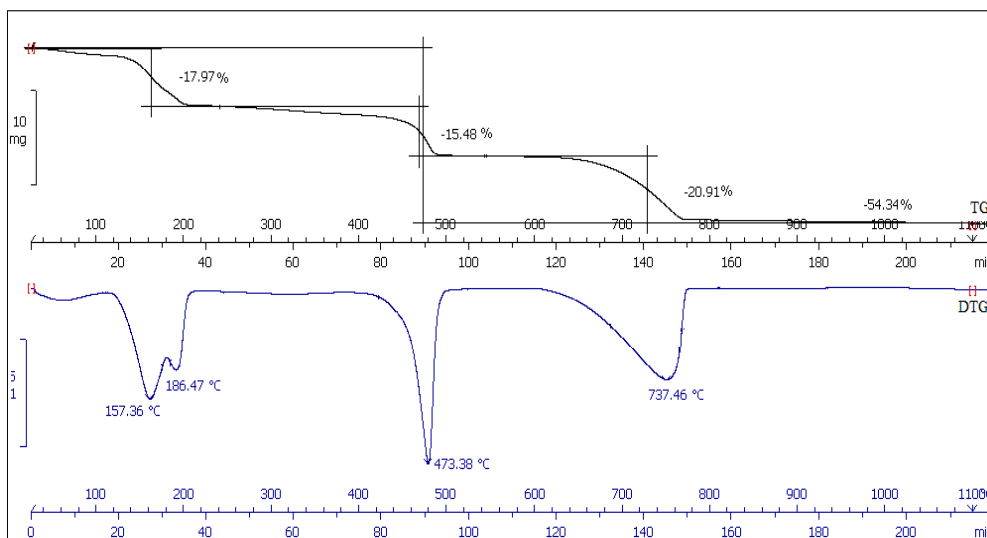


Fig II.20. Curbele TG si DTG pentru calculul 7

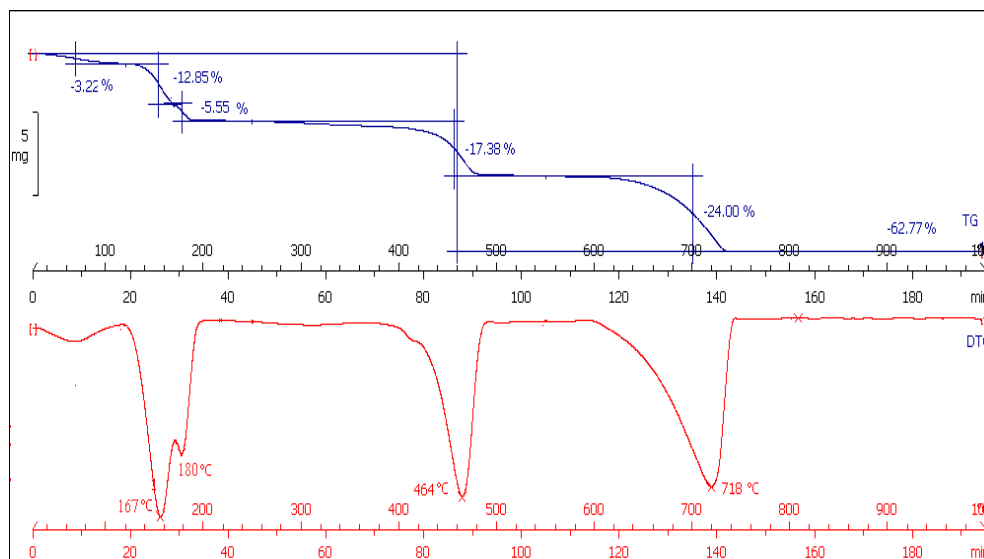


Fig II.21. Curbele TG si DTG pentru calculul 8

Astfel, procesul de deshidratare are loc in doua etape puse in evidenta pe curba TG si mult mai clar pe curba DTG, unde se disting doua varfuri atribuite pierderii succesive a celor doi moli de apa la temperaturi diferite. Variatiile de masa si masa reziduala corespunzatoare calculilor din figurile II.18-II.21 sugereaza ca acestia sunt constituiti preponderent din $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, dar pot sa contina si $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ precum si impuritati (organic, inert).

În tabelul II.4. se prezintă pierderile de masă și temperaturile corespunzătoare etaloanelor $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, respectiv $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, precum și calculilor 1÷8 încadrați în această categorie. Datorită faptului ca este dificil de stabilit din pierderile de masă prezența unor faze secundare sau a celor doi oxalați în amestec, au fost introduși doi parametri de evaluare: raportul $r1 = \text{CO}/\text{CO}_2$, respectiv $r2 = \text{H}_2\text{O}/\text{CO}_2$. Primul raport ($r1$) este relevant în cazul prezenței, pe langa faza majoritară de tip oxalat (caracterizată printr-un raport $r1 = 0,636$) a unei faze organice care se descompune în același domeniu de temperatură cu descompunerea CaC_2O_4 în intervalul 460-480 °C și care are o valoare $r1 > 0,636$. Cel de-al doilea raport $r2$, este un indicator al prezenței ambelor faze de oxalat (mono- și dihidrat) în amestec. Astfel, dacă pentru oxalatul monohidrat $r2 = 0,41$, iar pentru oxalatul dihidrat $r2 = 0,82$, o valoare a acestui raport $0,41 < r2 < 0,82$, indică prezența unui amestec de oxalați. De asemenea, o valoare mai mare a masei reziduale indică prezența unei faze inerte (SiO_2) alături de faza degradabilă.

Rezultatele evaluării compoziției calculilor pe baza analizei termice sunt redată în tabelul II.3.

Tabel II.4. Rezultatele analizei termice a calculilor 1- 8

Calcul	H ₂ O (%)	T ₀ (°C)	CO (%)	T ₀ (°C)	CO ₂ (%)	T ₀ (°C)	m _{rez} (%)	r1	r2	Concluzii
CaC ₂ O ₄ ·H ₂ O	12,3	170	19,2	482	30,1	724	38,4	0,636	0,41	100% COM - etalon
CaC ₂ O ₄ ·2H ₂ O	21,9	166 189	17,1	460	26,8	751	34,1	0,636	0,82	100% COD - etalon
Calcul 1	13,8	168	20,6	460	28,8	715	36,8	0,72	0,48	95,6% COM + organic
Calcul 2	13,4	177	20,8	470	29,1	729	36,7	0,71	0,46	96,6% COM + organic
Calcul 3	12,3	188	16,7	482	24,0	748	47,0	0,69	0,51	79,6% COM + inert
Calcul 4	13,4	170	19,5	462	27,8	722	39,3	0,70	0,48	92,2% COM + organic + inert
Calcul 5	20,2	167 180	16,0	456	25,4	693	38,4	0,63	0,79	94,8% COD + inert
Calcul 6	19,8	159 187	18,7	475	27,7	746	33,8	0,67	0,71	90 % COD + CaCO ₃
Calcul 7	18,0	186 218	15,5	473	20,9	737	45,6	0,74	0,86	COD + org+ inert+ (COM ?)
Calcul 8	18,4	176 217	17,4	464	24,2	718	40,0	0,72	0,76	COD + COM + org+ inert

În care: T₀- temperatura optimă în care pierderea de masă are loc cu viteză maximă;

m_{rez}- masa reziduală obținută în urma tratamentului termic;

r1- raportul dintre pierderile de masă CO și respectiv CO₂;

r2- raportul dintre pierderile de masa H₂O și CO₂;

COM- oxalat de calciu monohidrat;
 COD- oxalat de calciu dihidrat.

În cazul calculului 5, când în compoziția acestuia s-a stabilit că se găsește oxalat de calciu dihidrat și material inert, se poate calcula conținutul de oxalat (94,8 %) din pierderea de CO_2 , atribuită descompunerii carbonatului de calciu.

În cazul calculului 6, când în compoziția acestuia s-a stabilit că se găsește oxalat de calciu dihidrat și material de natură organică, din pierderea de CO_2 (mai mare) rezultă un conținut de oxalat de 103,3 %. Din aceasta rezultă că în amestec se găsește și CaCO_3 . În acest caz, conținutul de oxalat se poate calcula din pierderea de H_2O , ca fiind 90 %.

Corelarea valorilor (CO , CO_2 și m_{rez}) obținute la descompunerea oxalatilor, permite stabilirea cu multă siguranță a compoziției calculilor privind substanța activă (oxalat) cât și prezenta altor componente (de natură organică sau inertă).

Calculi de tip urat

Curbele TG și DTG pentru calculii 9 (figura II.22.) și 10 (figura II.23.) prezintă o comportare similară cu cele ale acidului uric anhidru (etalon, Anexa 1) și o stabilitate termică ridicată până la 380 °C, după care masa scade cu viteză mai mare până la 440 °C, pierderea de masă fiind corespunzătoare descompunerii acidului uric anhidru, urmată de o pierdere lentă până la 900 °C atribuită descompunerii unor componente organice prezente în compoziția a probei, pierderea totală fiind mai mare de 98 %, ceea ce arată că, calculul conține numai acid uric.

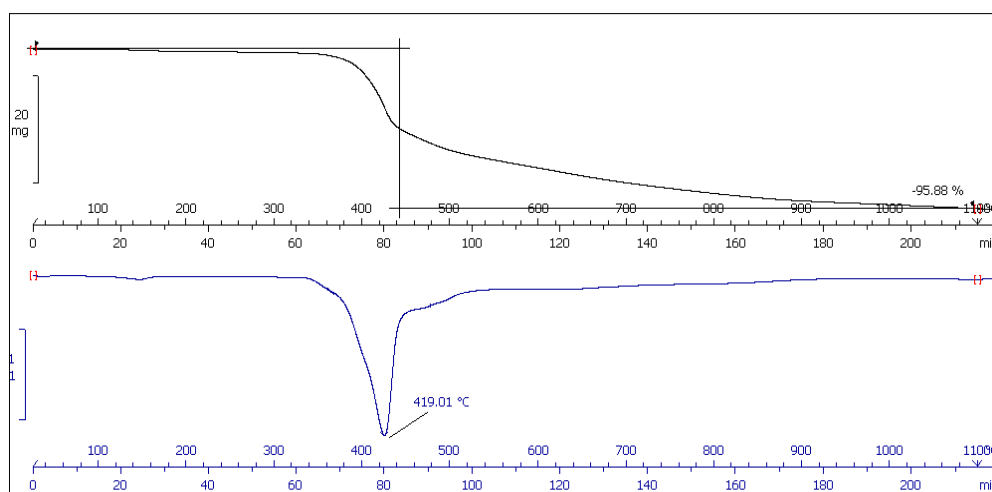


Fig. II.22. Curbele TG și DTG pentru calculul 9

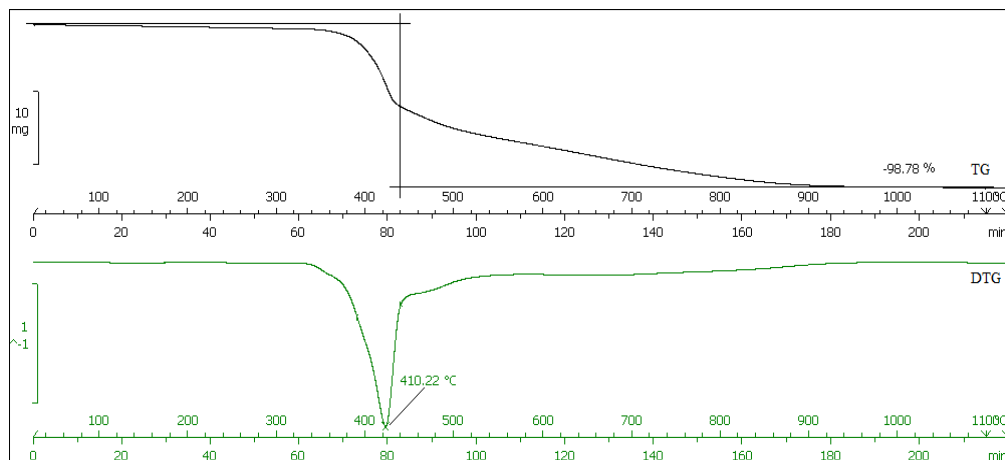


Fig. II.23. Curbele TG și DTG pentru calculul 10

Atât alura curbelor, cu domeniul de stabilitate până la 350 °C, cât și pierderea totală de masă (~ 100%) indică faptul că acești calculi sunt de natură organică, de tip acid uric.

Calculi micști de tip oxalat-urat

Pentru a se confirma acest tip de calculi, s-a preparat un amestec sintetic de oxalat de calciu monohidrat și acid uric în raport molar 4:1. În figura II.24. se prezintă curbele TG și DTG ale acestui amestec, care comparate cu evoluția curbelor termice ale etaloanelor (Anexa 1) identifică prezența celor doi componenți în amestec. Prima etapă cu pierdere de masă până la 200 °C evidențiată și pe curba DTG este atribuită deshidratării oxalatului de calciu monohidrat. În intervalul 300-500 °C are loc o pierdere de masă în două etape ce corespunde descompunerii acidului uric la 415 °C, respectiv descompunerii oxalatului de calciu la 471 °C. În intervalul 680-770 °C are loc descompunerea carbonatului de calciu rezultat din oxalatul de calciu cu o pierdere de masă de aproximativ 21 %. CO_2 . Din pierderea de CO_2 corespunzătoare CaCO_3 din oxalat se poate calcula compoziția amestecului oxalat-acid uric, care verifică raportul de amestecare.

Din evoluția curbelor termice a calculilor 11 și 12 redată în figurile II.25. și II.26. se constată că aceștia sunt calculi micști, care conțin $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ și acid uric. Această atribuire se bazează și pe interpretarea curbelor din figura II.24. obținute pentru amestecul mecanic de oxalat de calciu monohidrat și acid uric.

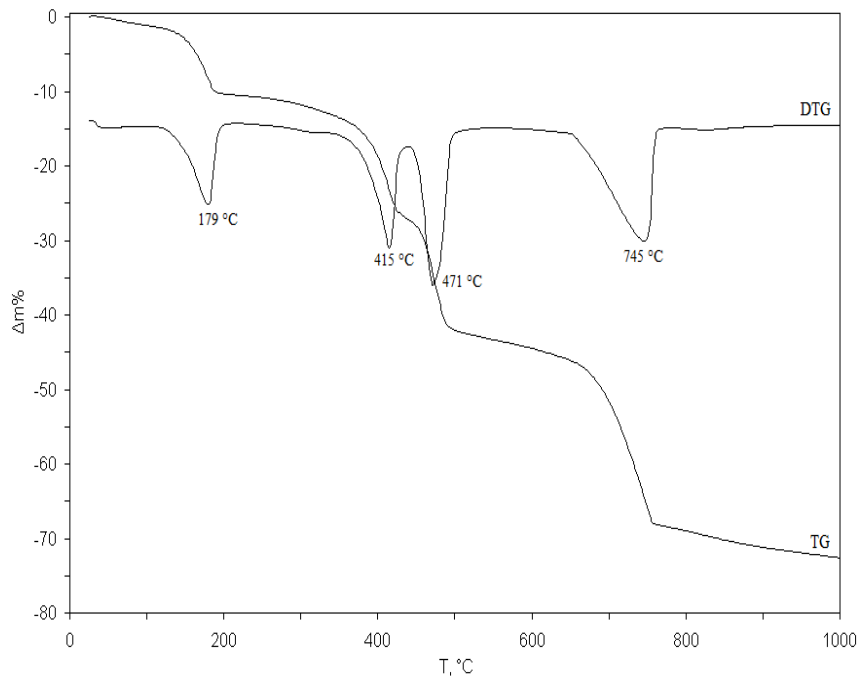
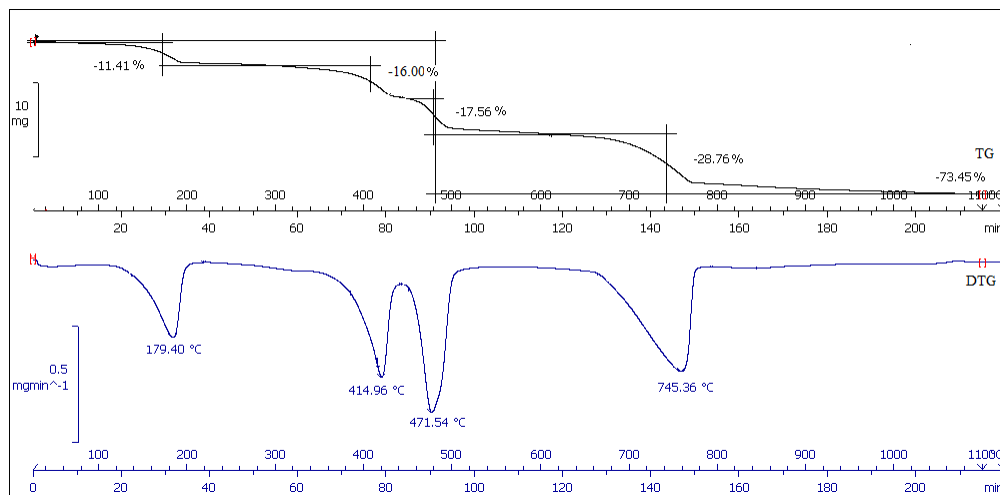
Fig. II.24. Curbele termice ale amestecului sintetic $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ si acid uric

Fig. II.25. Curbele TG si DTG ale calculului 11

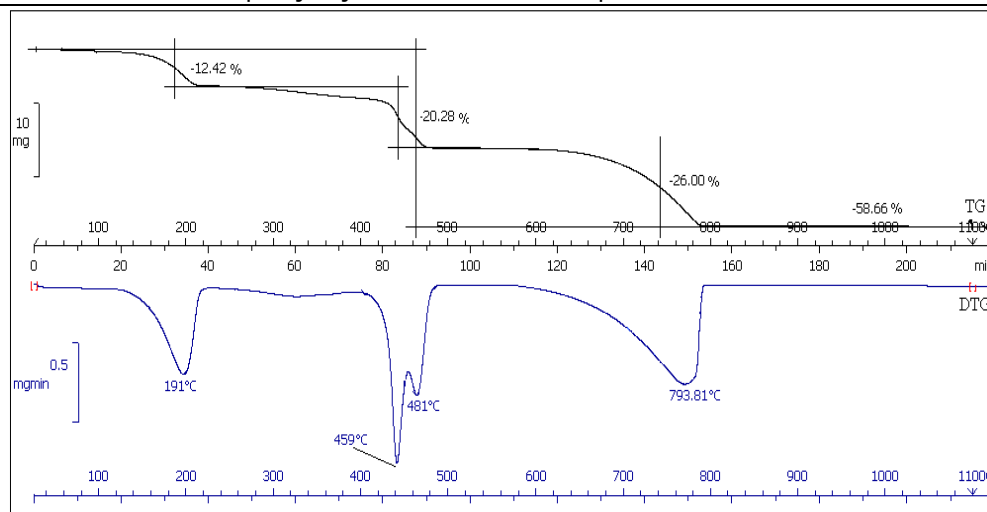


Fig. II.26. Curbele TG și DTG ale calculului 12

Pierderile de masă diferite, corespunzătoare celor doi calculi (11 și 12), precum și evoluția curbelor termice arată că, în compoziția calculilor se găsesc rapoarte diferite oxalat-acid uric. Din pierderile de CO_2 rezultat la descompunerea carbonatului de calciu provenit din oxalat rezultă pentru calculul 11 un conținut de 92 % oxalat de calciu monohidrat, iar pentru calculul 12 un conținut de 86 % oxalat. Deoarece calculul 11 are un conținut mai mic de acid uric, cele două procese de descompunere în domeniul 400-500 °C se înregistrează diferentiat, atât curba TG cât și DTG, comparativ cu calculul 12, unde pe curba TG pierderea are loc aproape continuu.

Din masa reziduală unde, pentru calculul 11 corespunzător cantității de $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ar trebui să aibă o valoare de 35,6 % CaO se înregistrează un reziduu mai mic, 26,5%, iar în cazul calculului 12 ar trebui să rezulte o masă reziduală de 33 % CaO comparativ cu cea înregistrată de 41,4%.

Cele două situații se pot explica prin faptul că în cazul când masa reziduală 26,5 % < 35,6 % există posibilitatea prezentei unor faze organice (în cazul când conținutul de acid uric este mic există probabilitatea ca acesta să cristalizeze prin intermediul unei matrici organice peste care se pot depune cristalele de oxalat de calciu).

În cazul când masa reziduală 41,4 % > 33,0 %, există posibilitatea prezentei în compoziția calculului a unei faze inerte termic (SiO_2).

De remarcat că, în cazul în care în calcul se găsește un conținut mare de material inert (calculul 12), temperaturile de descompunere (459 și 481 °C) respectiv 793 °C la descompunerea carbonatului de calciu, se deplasează spre valori mai mari. Aceasta se explică prin faptul că substanța activă se găsește dispersată în materialul inert.

Calculi de tip fosfat

În general calciii de tip fosfat pot avea diverse compoziții: $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, CaHPO_4 , $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, etc. Din literatura cele mai frecvente compoziții sunt $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (struvit), $\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (newberit) și $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (fosfatul de calciu) [190, 191].

Majoritatea fosfatilor prezintă curbe TG similare, cu pierdere de masă în intervalul de temperatură 80-150 °C.

În figurile II.27-II.29 sunt prezentate curbele termice ale calculului 13, 14 și 15. Din evoluția curbelor și prin compararea acestora cu etaloane, se poate spune că acești calculi sunt de tip fosfat. Din pierderile de masă se poate stabili natura fosfatilor.

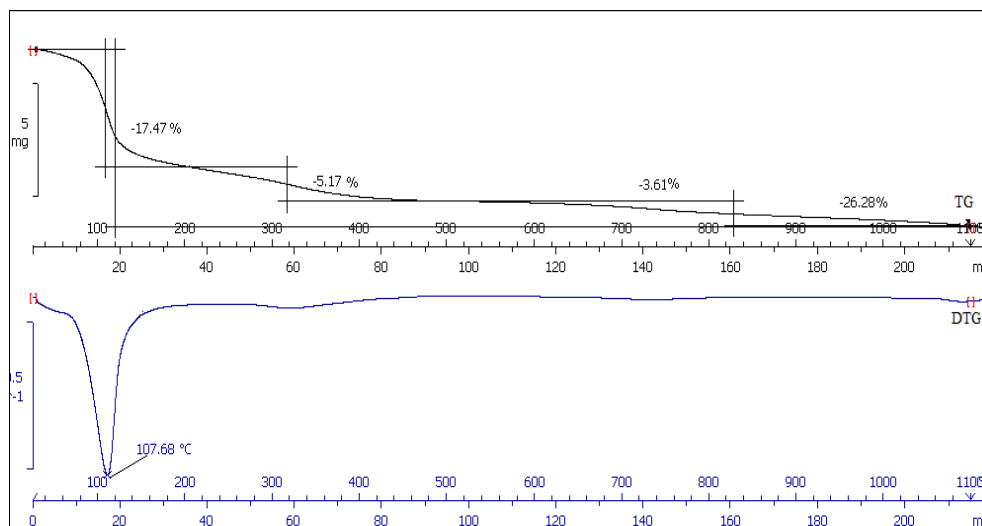


Fig. II.27. Curbele TG și DTG ale calculului 13

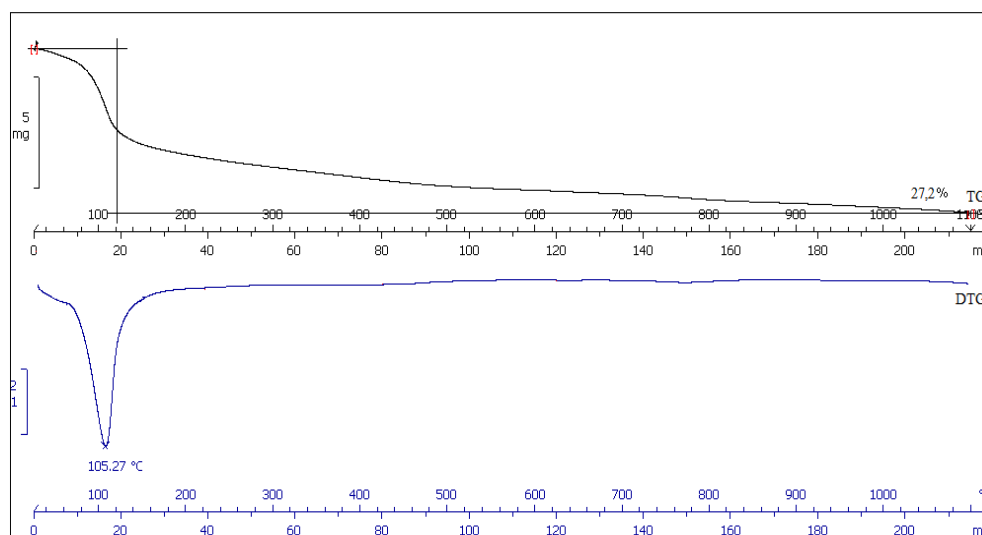
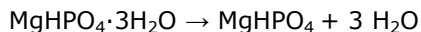


Fig. II.28. Curbele TG și DTG ale calculului 14

Calculii 13 și 14 ale caror curbe TG prezentate în figurile II.27. și II.28. înregistrează pierderi de masă de aproximativ 27 %. Conform reacției de descompunere a $\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$:



unde pierderea de masă este 31%, se poate concluziona că acești calculi sunt constituiți din newberit.

Curba TG corespunzătoare calculului 15 (figura II.29.) arată o pierdere de masă în domeniul 80-120 °C de aproximativ 50 %, atribuită eliminării apei de cristalizare și amoniacului conform reacției:



O dată cu creșterea temperaturii, MgHPO_4 este transformat în pirofosfat de magneziu, $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$, înregistrându-se pe curba DTA un efect slab exoterm la aproximativ 716 °C.



În acest caz pierderea totală de masă este de aproximativ 50 % comparativ cu valoarea teoretică de 51%. Astfel, calculul 15 poate fi considerat un calcul pur de tip struvit.

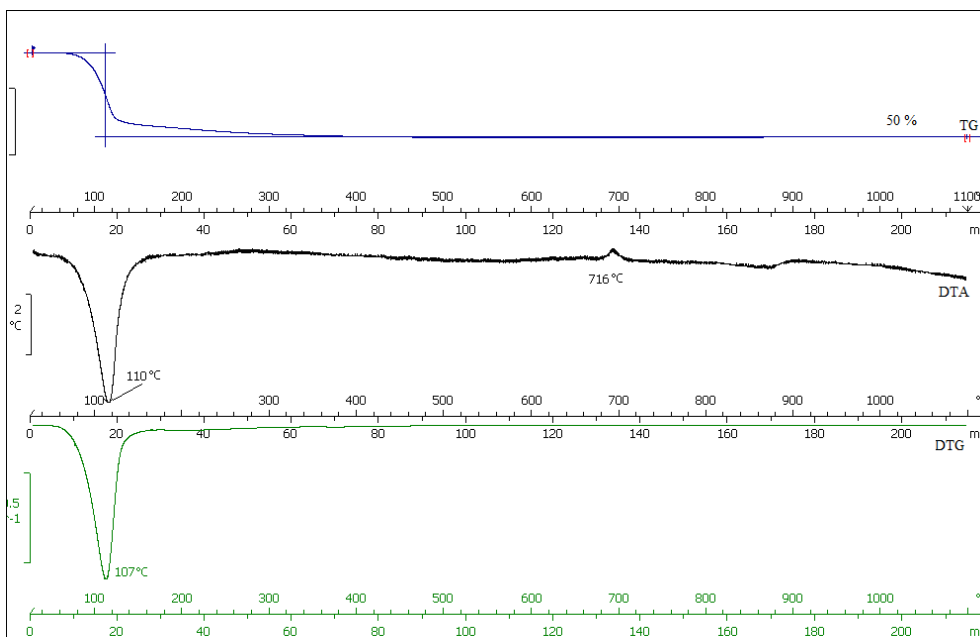


Fig. II.29. Curbele TG și DTG ale calculului 15

Calculi micsti de tip fosfat-oxalat

Din curbele termice corespunzatoare calculilor 16, 17 si 18 (Fig. II.30. – II.32.) si din rezultatele anterioare (descompunerea oxalaților respectiv fosfaților), se poate spune ca acestia contin atat fosfat cat si oxalat de calciu. Din valorile pierderilor de masa corespunzatoare etapei a treia de descompunere, a carbonatului de calciu ($-\text{CO}_2$), se poate calcula continutul procentual de oxalat de calciu din compozitia celor trei calculi, care rezulta a fi 18, 20 respectiv 16%.

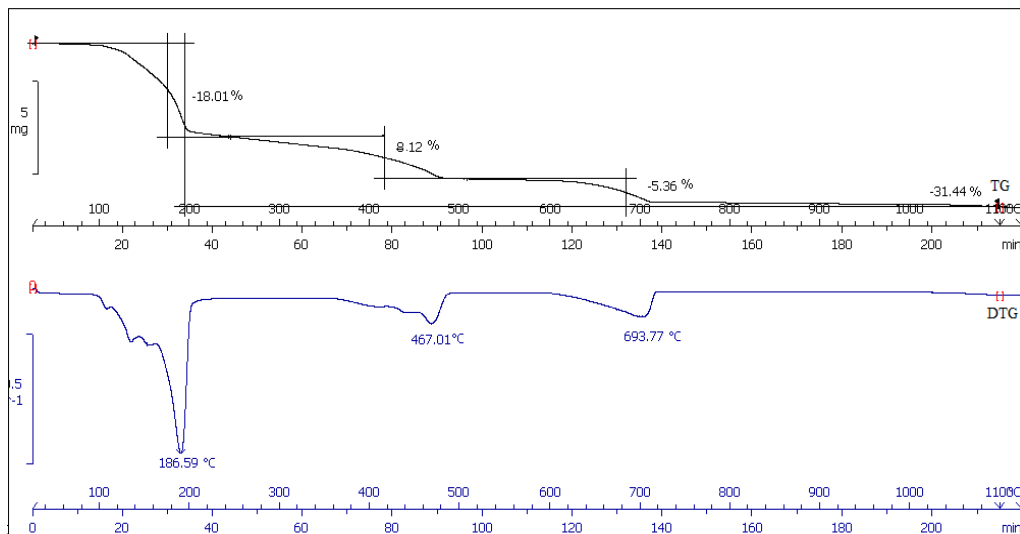


Fig. II.30. Curbele TG si DTG ale calculului 16

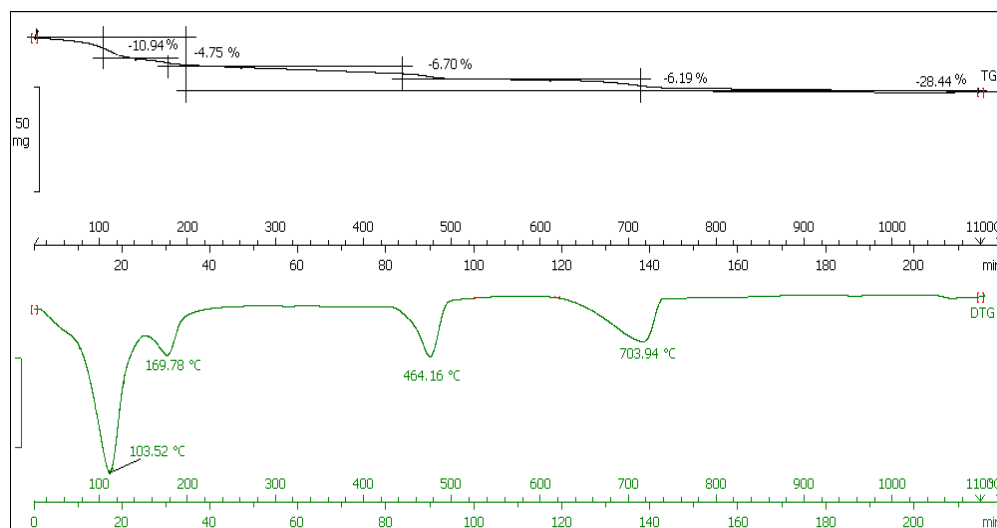


Fig. II.31. Curbele TG si DTG ale calculului 17

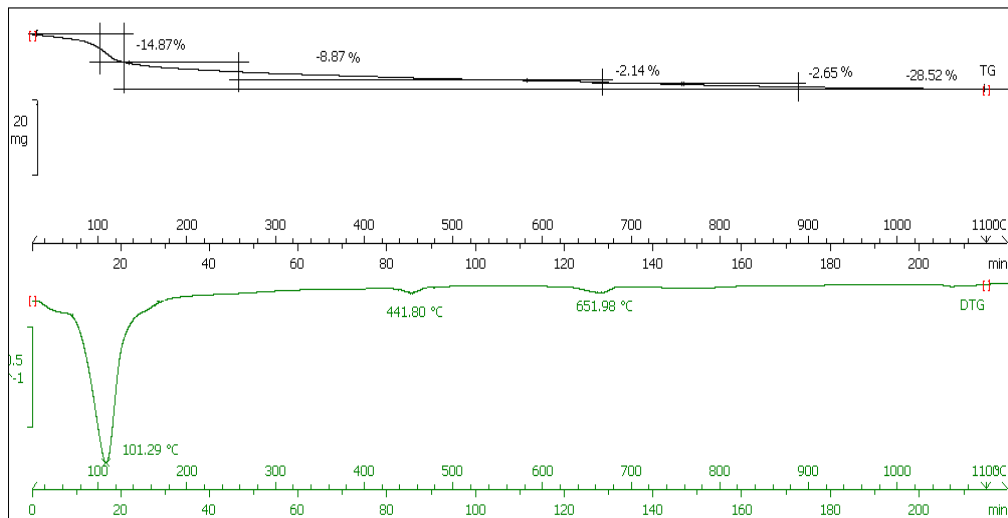


Fig. II.32. Curbele TG si DTG ale calculului 18

Din rezultatele obținute prin analiza termică a celor 18 calculi simpli sau micști luați în studiu, se poate spune că această tehnică oferă informații deosebit de valoroase asupra compoziției calitative și cantitative, precum și asupra purității calculilor.

Concluzii

Din datele de analiza termică prezentate asupra calculilor simpli și/sau micști se constată că, în cazul analizei calitative și cantitative a calculilor **simpli** metoda oferă rezultate excelente pentru identificarea respectiv dozarea componentelor din compoziția calculilor.

Din valorile pierderilor de masă (H_2O , CO , CO_2) și din masa reziduală se poate determina puritatea calculilor ținând seama de prezența și a unor materiale **inerte** din punct de vedere termic.

În cazul calculilor de tip oxalați se poate determina dacă în compoziția acestora se găsesc și unele substanțe de natură **organică** puse în evidență în etapa de descompunere termică a oxalatului de calciu anhidru (~ 450 °C).

Pentru prima dată s-a propus un algoritm care implică raportul (r_1) al pierderilor de masă CO/CO_2 din care se poate prevedea conținutul de substanțe organice în compoziția calculilor respectiv raportul (r_2) al pierderilor de masă H_2O/CO_2 care poate prevedea prezența simultană a celor doi oxalați (mono- și dihidrat) în calcul. Corelarea valorilor (CO , CO_2 și m_{rez}) obținute la descompunerea oxalatilor, permite stabilirea cu multă siguranță a compoziției calculilor privind substanța activă (oxalat) cât și prezența altor componente (de natură organică sau inertă).

Prin analiza termică se identifică amestecul de ($CaC_2O_4 \cdot H_2O$ + $CaC_2O_4 \cdot 2H_2O$), dar nu se poate determina cu precizie raportul în care cele două componente se găsesc în amestec în compoziția calculului.

În cazul calculilor micști de tip oxalat-acid uric, analiza TG oferă rezultate excelente pentru determinarea compoziției calculului, din pierderea de masă (CO_2)

corespunzătoare descompunerii carbonatului de calciu. Acest fapt a fost confirmat prin datele obținute în cazul amestecului sintetic realizat în cadrul determinărilor experimentale.

Din curba DTG se identifica cu multa acuratete amestecul urat-oxalat prin inregistrarea distincta a doua picuri la temperaturi diferite, ce corespund descompunerii acidului uric, respectiv oxalatului de calciu anhidru.

Din evolutia curbelor TG si DTG si din pierderile de masa se identifica natura calculilor fosfatici simpli. In cazul calculilor micsti de tip fosfat-oxalat, compozitia acestora se determina foarte bine prin calcularea continutului de oxalat din pierderea de masa corespunzatoare descompunerii carbonatului de calciu.

4.2. Cinetica descompunerii neizoterme a oxalatului de calciu monohidratat și a unor calculi reno-urinari de tip oxalat

Studiul cinetic a fost efectuat în condiții neizoterme cu scopul de a determina parametrii cinetici utilizabili în evaluarea stabilității și mecanismului reacției de descompunere termică a calculilor de tip oxalați. Din valorile parametrilor cinetici se pot face observații cu privire la stabilitatea și structura calculilor reno-urinari.

Compușii investigați sunt:

- $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ pur (etalon),
- Calculul renal 1 – identificat ca fiind $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Tabel II.4.),
- Calculul renal 5 – identificat ca fiind $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sau $(\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} + \text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O})$ (Tabel II.4.).

Condițiile de efectuare ale analizelor termice:

- Termobalanță TG/SDTA 851 e Mettler –Toledo.
- Atmosferă: inertă
- viteze de încălzire: $3 \text{ K} \cdot \text{min}^{-1}$, $5 \text{ K} \cdot \text{min}^{-1}$, $7 \text{ K} \cdot \text{min}^{-1}$ și $10 \text{ K} \cdot \text{min}^{-1}$.
- domeniul de temperatură: $25 - 1000 \text{ }^\circ\text{C}$
- domeniul masei probei analizate: $10,0 - 20 \text{ mg}$.

4.2.1. Metode de analiză cinetică a datelor neizoterme

Pentru procesarea datelor neizoterme, în scopul obținerii parametrilor cinetici din date neizoterme, a fost utilizat Programul "Netzsch Thermokinetics: A Software Module for the Kinetic Analysis of Thermal Measurements" [192]. Acest program permite evaluarea dependenței energiei de activare de gradul de conversie prin metodele izoconversionale Friedman [193] și Ozawa-Flynn-Wall [194, 195], determinarea tripletei cinetice pentru procesele ce au loc într-o singură etapă și determinarea mecanismului proceselor complexe împreună cu parametrii cinetici corespunzători. Recent [196, 197], acest program a fost utilizat pentru analiza cinetică a unor date neizoterme.

Metoda izoconversională diferențială propusă de Friedman [193] (FR) este bazată pe forma logaritmică a ecuației vitezei de reacție:

$$\ln \beta \frac{d\alpha}{dT} = \ln A + \ln f(\alpha) - \frac{E}{RT} \quad (1)$$

unde :

α - este gradul de conversie

T - temperatura

β - viteza de încălzire liniară

A - factorul pre-exponențial

$f(\alpha)$ - funcția diferențială de conversie

E - energia de activare

R - constanta universală a gazelor.

Pentru $\alpha = const.$, reprezentarea $\ln\left(\beta \frac{d\alpha}{dT}\right)$ funcție de $(1/T)$, obținută utilizând

termogramele înregistrate la mai multe viteze de încălzire, este o dreaptă din a cărei pantă se determină energia de activare.

Metoda integrală izoconversională propusă independent de Ozawa [194] și Flynn și Wall [195] este bazată pe ecuația:

$$\ln \beta = \ln \frac{AE}{Rg(\alpha)} - 5.331 - 1.052 \frac{E}{RT} \quad (2)$$

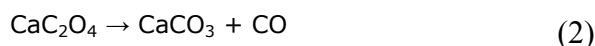
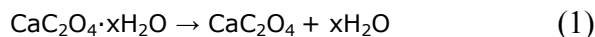
unde $g(\alpha) = \int_0^{\alpha} \frac{d\alpha}{f(\alpha)}$ este funcția integrală de conversie.

Pentru $\alpha = const.$, reprezentarea $\ln \beta$ funcție de $(1/T)$, obținută utilizând termogramele înregistrate la mai multe viteze de încălzire, este o dreaptă din a cărei pantă se determină energia de activare.

Pentru descrierea cinetică completă a unui proces simplu trebuie determinați toți membrii tripletei cinetice (E , A și funcția de conversie), pe când în cazul proceselor complexe (reacții consecutive, reacții paralele, reacții reversibile, etc.), trebuiesc determinate toate tripletele cinetice corespunzătoare reacțiilor ce au loc. În acest scop se utilizează programe de rulare pe computer a datelor experimentale, dintre care noi am folosit Programul "Netzsch Thermokinetics: A Software Module for the Kinetic Analysis of Thermal Measurements" [192]. Testul final al tuturor rezultatelor obținute constă în compararea curbelor experimentale cu cele calculate utilizând parametrii cinetici evaluați.

Figura II.33. arată curbele TG, DTG și DTA la încălzirea neizotermă a $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ etalon înregistrate cu o viteză de $7 \text{ K} \cdot \text{min}^{-1}$; rezultate similare au fost obținute și pentru celelalte viteze de încălzire.

Prin încălzirea progresivă a probei în domeniul de temperatură $20 - 1000 \text{ }^\circ\text{C}$ are loc descompunerea termică în trei etape înregistrate distinct pe cele trei curbe termice, conform ecuațiilor.



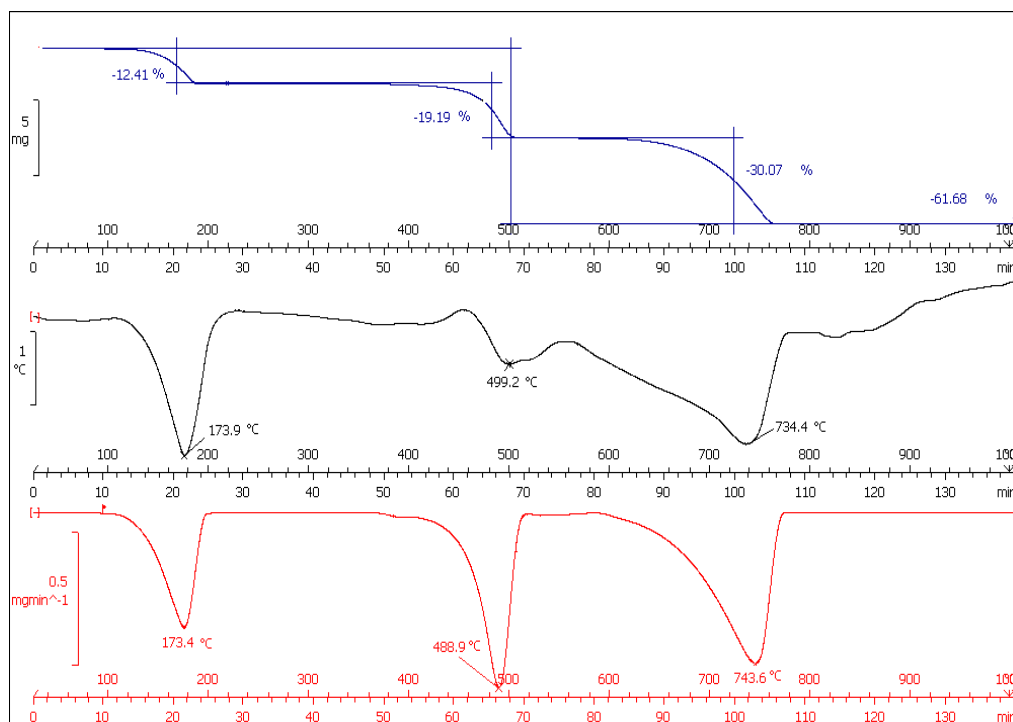


Fig.II.33. Curbele TG, DTG și DTA pentru descompunerea $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ cu viteza $7 \text{ K} \cdot \text{min}^{-1}$

Parametrii caracteristici corespunzători acestor etape sunt redați în tabelul II.5.

Tabel II.5. Parametri caracteristici ai etapelor de descompunere a $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$

β [K· min ⁻¹]	Etapa I			Etapa II			Etapa III			Δm_t [%]
	Δm [%]	T_{\min}^{DTG} [°C]	T_{\min}^{DTA} [°C]	Δm [%]	T_{\min}^{DTG} [°C]	T_{\min}^{DTA} [°C]	Δm [%]	T_{\min}^{DTG} [°C]	T_{\min}^{DTA} [°C]	
3	12,32	162,0	160,1	19,08	472,5	484,5	29,96	701,7	688,3	61,40
5	12,24	169,6	169,9	19,00	482,3	491,7	29,97	723,7	711,9	61,21
7	12,41	173,4	173,9	19,19	488,9	499,2	30,07	743,6	734,4	61,68
10	12,34	177,2	182,8	18,79	493,0	498,7	30,30	762,7	763,3	61,43

În care: β - viteza de încălzire;
 Δm - pierderea de masă;
 T_{\min}^{DTG} - vârful picului pe curba DTG;
 T_{\min}^{DTA} - vârful picului pe curba DTA.

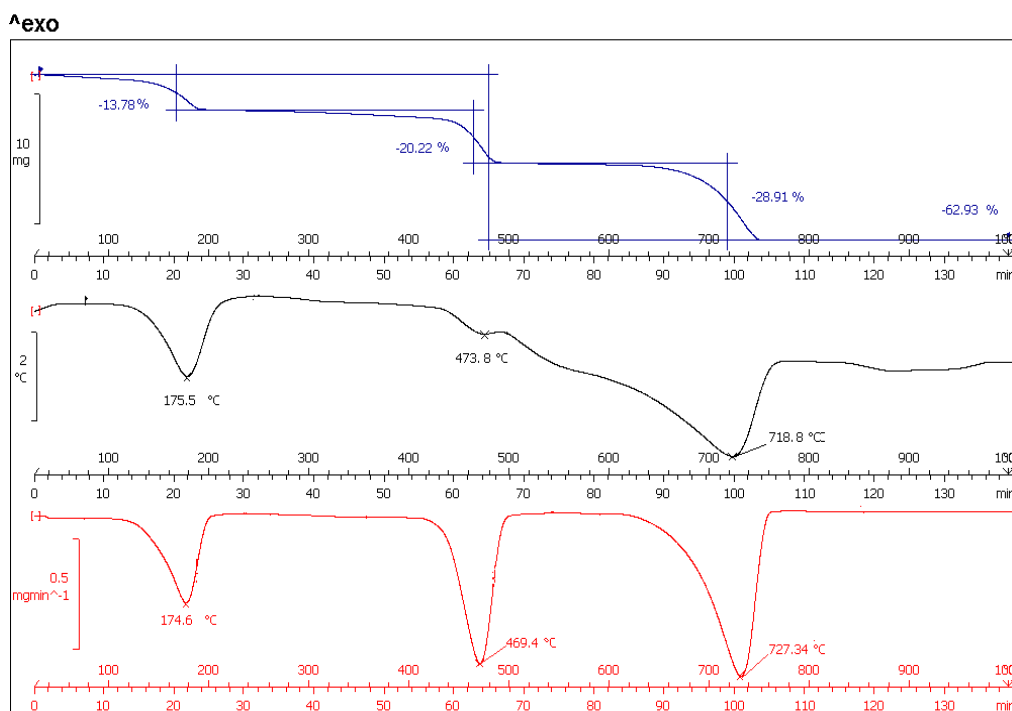
Pierderea de masă în etapa a treia corespunde formării CO_2 și poate fi determinată din ultima treaptă a curbei TG. Cunoscând această masă, s-a calculat masa de CO formată în etapa a doua de descompunere a oxalatului de calciu anhidru și valoarea lui x (Tabel II.6.).

Tabel II.6. Masa de CO și numărul de moli H_2O în $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ etalon

β [$\text{K} \cdot \text{min}^{-1}$]	CO		H_2O
	Calculat /mg	Experimental /mg	x
3	3,5645	3,5587	1,0
5	3,6833	3,6600	1,0
7	3,5300	3,4960	1,0
10	3,5560	3,4685	1,0

În figura II.34. se prezintă curbele TG, DTG și DTA la încălzirea neizotermă a $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (calculul 1) înregistrate cu viteza de $7 \text{ K} \cdot \text{min}^{-1}$; rezultate similare au fost obținute și pentru celelalte viteze de încălzire.

Încălzirea calculului a fost realizată în același domeniu de temperatură, când are loc descompunerea termică tot în trei etape, înregistrate distinct pe cele trei curbe termice, conform ecuațiilor (1-3).

Fig. II.34. Curbele TG, DTG și DTA pentru descompunerea calculului 1 cu viteza $7 \text{ K} \cdot \text{min}^{-1}$

Parametrii caracteristici corespunzători acestor etape sunt prezentați în tabelul II.7.

Tabel II.7. Parametri caracteristici ai etapelor de descompunere a calculului 1

β [K·min ⁻¹]	Etapa I			Etapa II			Etapa III			Δm_t [%]
	Δm [%]	T_{\min}^{DTG} [°C]	T_{\min}^{DTA} [°C]	Δm [%]	T_{\min}^{DTG} [°C]	T_{\min}^{DTA} [°C]	Δm [%]	T_{\min}^{DTG} [°C]	T_{\min}^{DTA} [°C]	
3	13,7	162,0	162,0	21,48	445,3	452,0	27,13	636,8	636,5	62,28
5	13,83	167,8	168,3	20,64	459,9	461,1	28,80	715,1	708,3	63,25
7	13,78	174,6	175,54	20,22	469,5	473,8	28,91	727,3	718,8	62,93
10	13,49	178,7	183,55	19,99	473,4	478,8	28,90	744,1	737,9	62,38

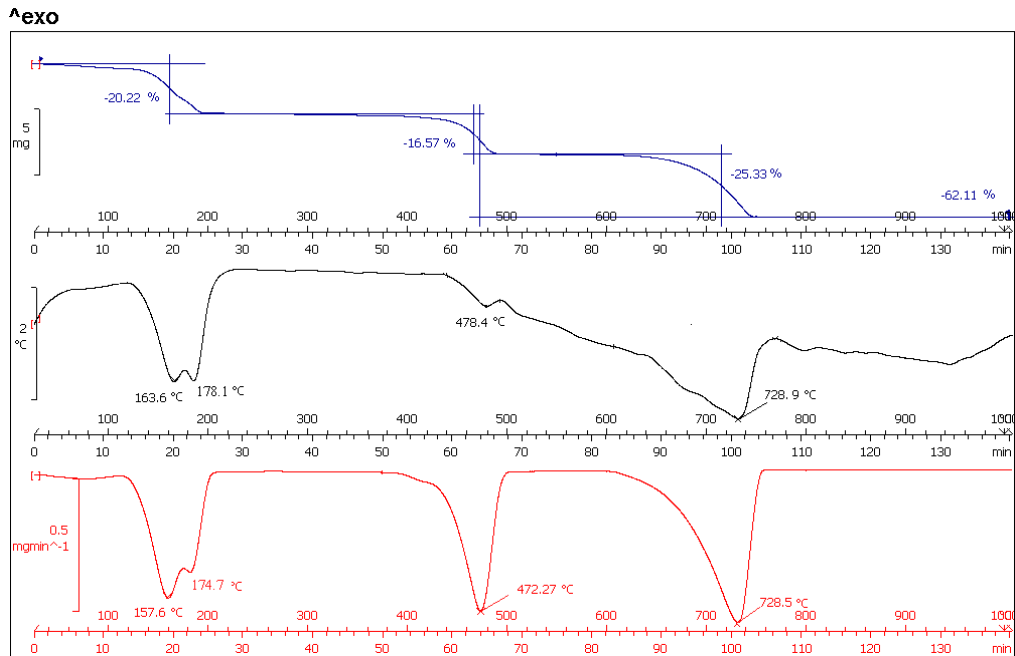
Pierderea de masa în etapa a treia corespunde formării CO₂ și poate fi determinată din ultima treaptă din curba TG. Cunoscând această masă, s-a calculat masa de CO formată în etapa a doua și valoarea lui x (Tabel II.8.).

Tabel II.8. Masa de CO și numărul de moli H₂O în calculul 1

β [K·min ⁻¹]	CO		H ₂ O
	Calculat /mg	Experimental /mg	x
3	3,0145	3,3305	1,1
5	3,1297	3,2158	1,1
7	3,7152	3,7314	1,1
10	3,4617	3,4605	1,1

Figura II.35. arată curbele TG, DTG și DTA la încălzirea neizotermă a calculului 5 (CaC₂O₄·2H₂O sau (CaC₂O₄·2H₂O+ CaC₂O₄·H₂O)) înregistrate cu viteza de 7 K min⁻¹; rezultate similare au fost obținute și pentru celelalte viteze de încălzire.

Încălzirea calculului 5 a fost realizată în același domeniu de temperatură când are loc descompunerea termică tot în patru etape. De remarcat că în acest caz procesul de deshidratare are loc în două trepte fără a se putea delimita cantitatea de apă corespunzătoare celor două trepte, variația de masă fiind exprimată ca pierdere totală.

Fig.II.35. Curbele TG, DTG și DTA pentru descompunerea calculului 5 cu viteza 7 K min⁻¹

Parametrii caracteristici corespunzători acestor etape sunt redați în tabelul II.9.

Tabel II.9. Parametri caracteristici ai etapelor de descompunere a calculului 5

β [K·m in ⁻¹]	Etapa I			Etapa II			Etapa III			Δm_t [%]
	Δm [%]	T^{DTG}_{min} [°C]	T^{DTA}_{min} [°C]	Δm [%]	T^{DTG}_{min} [°C]	T^{DTA}_{min} [°C]	Δm [%]	T^{DTG}_{min} [°C]	T^{DTA}_{min} [°C]	
3	20,7	144,3 167,4	148,2 169,7	17,10	456,8	456,0	24,82	693,4	692,9	61,92
5	19,97	152,13 180,3	156,6 179,7	16,77	466,1	473,6	24,96	714,7	703,6	61,70
7	20,22	157,6 182,4	163,6 183,8	16,57	472,2	478,5	25,33	728,5	728,9	62,11
10	20,15	162,5 188,9	166,7 187,2	17,09	475,7	546,0	24,60	741,0	740,5	61,85

Pierderea de masa în etapa a treia corespunde formării CO_2 și poate fi determinată din ultima treaptă a curbei TG. Cunoscând aceasta masa, s-a calculat masa de CO formată în etapa a doua și valoarea lui x (Tabel II.10.).

Tabel II.10. Masa de CO și numărul de moli H_2O în calcul 5

β [$\text{K}\cdot\text{min}^{-1}$]	CO		H ₂ O
	Calculat /mg	Experimental /mg	x
3	3,0189	3,1192	1,8
5	2,9135	2,9018	1,8
7	2,9848	2,9278	1,8
10	2,8705	2,8124	1,8

4.2.2. Calculul cinetic

4.2.2.1. Aplicarea metodelor izoconversionale FR și OFW

În Figura II.36. se arată dependența lui E_{FR} de gradul de conversie pentru toate probele investigate și procesul de deshidratare.

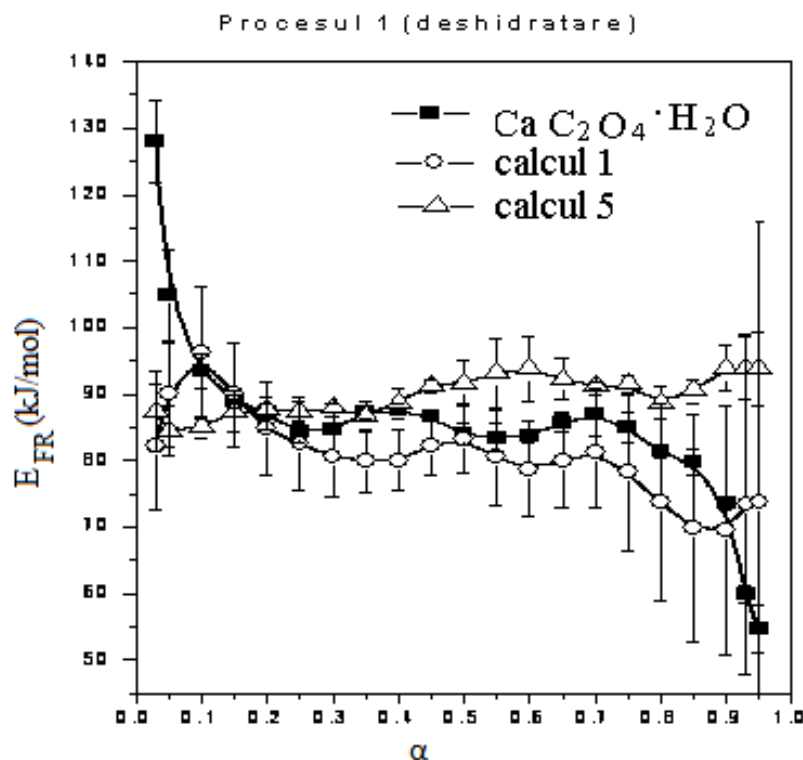


Fig. II.36. Dependențele lui E_{FR} de gradul de conversie pentru procesul de deshidratare

Rezultatele (dependența lui E_{FR} de gradul de conversie) obținute pentru procesul de deshidratare a $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ pur (etalon) sunt în bună concordanță cu cele raportate în lucrări anterioare [198-201].

Analiza datelor prezentate în Figura II.36 arată următoarele:

- pentru $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ pur (etalon), E_{FR} scade cu creșterea gradului de conversie pentru $0,05 \leq \alpha \leq 0,2$ și $0,7 \leq \alpha \leq 0,95$, iar pentru $0,2 \leq \alpha \leq 0,7$, E_{FR} este practic constant;
- pentru calculul renal 1 ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 1,1\text{H}_2\text{O}$), E_{FR} crește cu creșterea gradului de conversie pentru $0,03 \leq \alpha \leq 0,1$, E_{FR} este practic constant pentru $0,1 \leq \alpha \leq 0,7$; E_{FR} scade cu creșterea gradului de conversie pentru $0,7 \leq \alpha \leq 0,9$;
- pentru calculul renal 5 ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 1,8\text{H}_2\text{O}$), E_{FR} practic nu depinde de α ($\overline{E}_{FR} = 89,9 \pm 3,0 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$);
- materialele analizate prezintă valori specifice ale energiei de activare.

Rezultă că diferențele între numărul de molecule de apă de cristalizare se reflectă și în cinetica procesului de deshidratare a materialelor investigate.

În Figurile II.37.- II.39. sunt arătate comparativ curbele de variație alui E_{FR} și E_{OFW} de gradul de conversie pentru probele investigate.

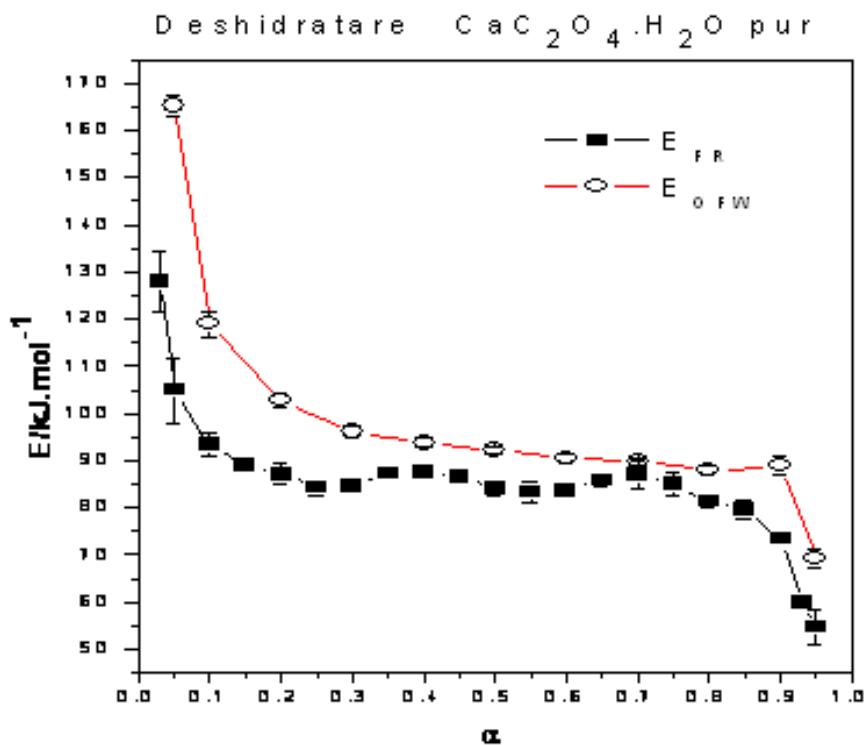


Fig. II.37. Dependențele lui E_{FR} de gradul de conversie pentru procesul de deshidratare a $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$

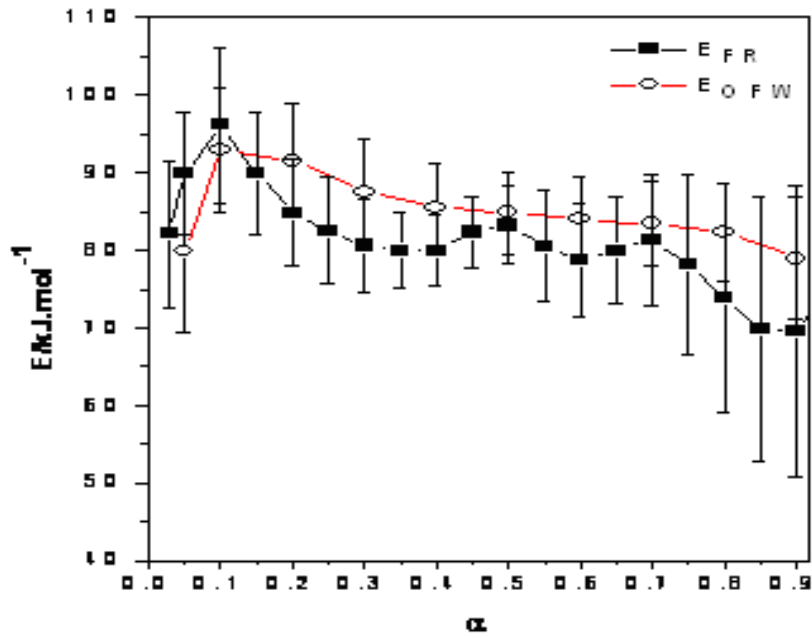


Fig. II.38. Dependențele lui E_{FR} de gradul de conversie pentru procesul de deshidratare a calciului 1

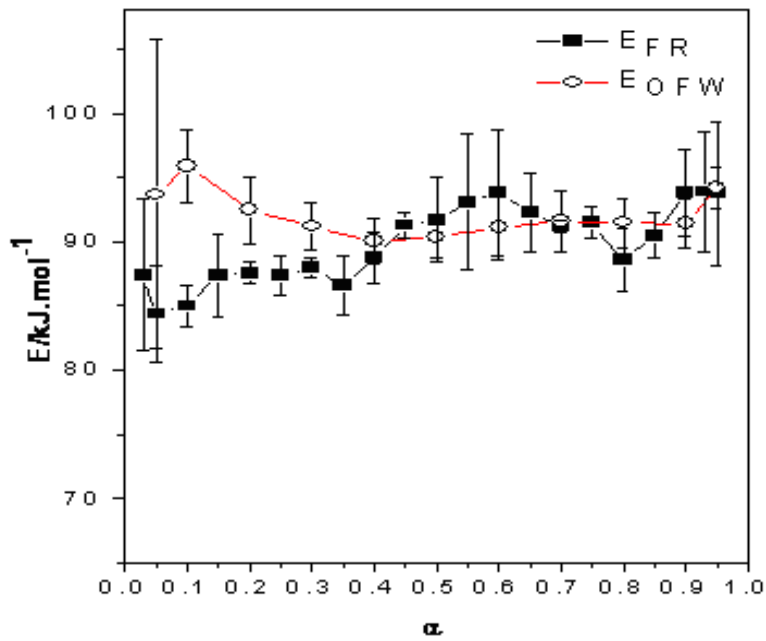


Fig. II.39. Dependențele lui E_{FR} de gradul de conversie pentru procesul de deshidratare a calciului 5

Se constată că forma curbelor E_{FR} funcție de α și E_{OFW} funcție de α sunt similare, dar există diferențe între valorile lui E_{FR} și E_{FWO} . Diferențele dintre valorile lui E_{FR} și E_{FWO} au fost explicate [201, 202] prin relațiile ce stau la baza metodelor izoconversionale. Rezultatele obținute prin metoda diferențială izoconversională FR utilizează valorile punctuale ale vitezei de reacție a procesului global, pe când metoda izoconversională integrală OFW reflectă istoria sistemului în domeniul conversiei $0 - \alpha$. De aceea, atunci când energia de activare depinde de gradul de conversie este recomandată utilizarea metodei diferențiale izoconversionale FR, iar rezultatele obținute prin această metodă au fost utilizate pentru determinarea mecanismului reacțiilor heterogene complexe [203-205].

Dependența energiei de activare de gradul de conversie arată că procesele de deshidratare a materialelor investigate sunt complexe, constând din reacții consecutive, paralele și/sau reversibile.

În Figurile II.40. și II.41. sunt arătate curbele E_{FR} funcție de α pentru procesele de descompunere ale oxalatului de calciu deshidratat (reacția 2) și a carbonatului de calciu (reacția 3), corespunzătoare $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ pur (etalon); curbe asemănătoare au fost obținute și pentru calcii renali 1 și 5. Se observă că ambele procese prezintă o dependență pronunțată și complicată a energiei de activare de gradul de conversie și valori relative ridicate ale abaterilor standard ale lui E . Prin urmare, și aceste procese sunt complexe, mai complexe decât procesele de deshidratare. Parametrul "A" a fost evaluat considerând $f(\alpha) = 1 - \alpha$ pentru ambele procese.

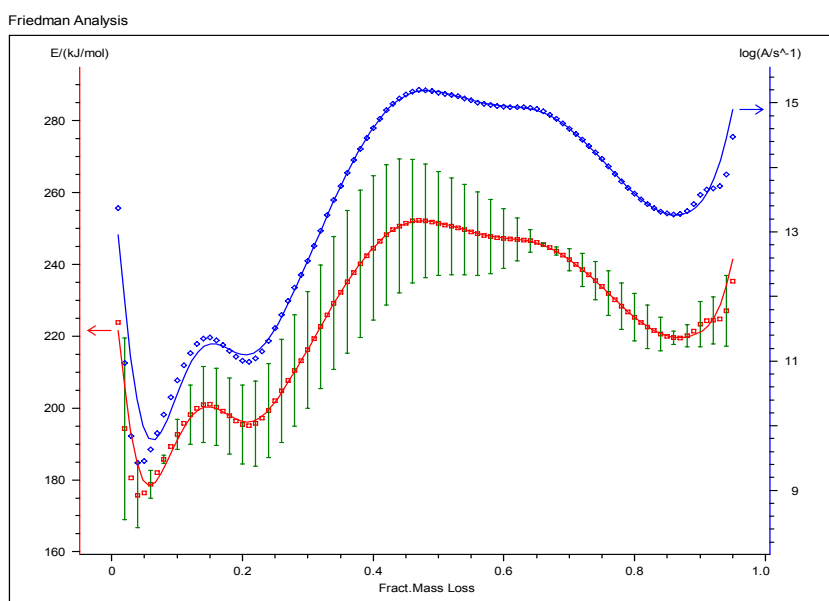


Fig. II.40. Dependențele lui E_{FR} de gradul de conversie pentru procesul de descompunere a CaC_2O_4 (reacția 2), pentru $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ etalon

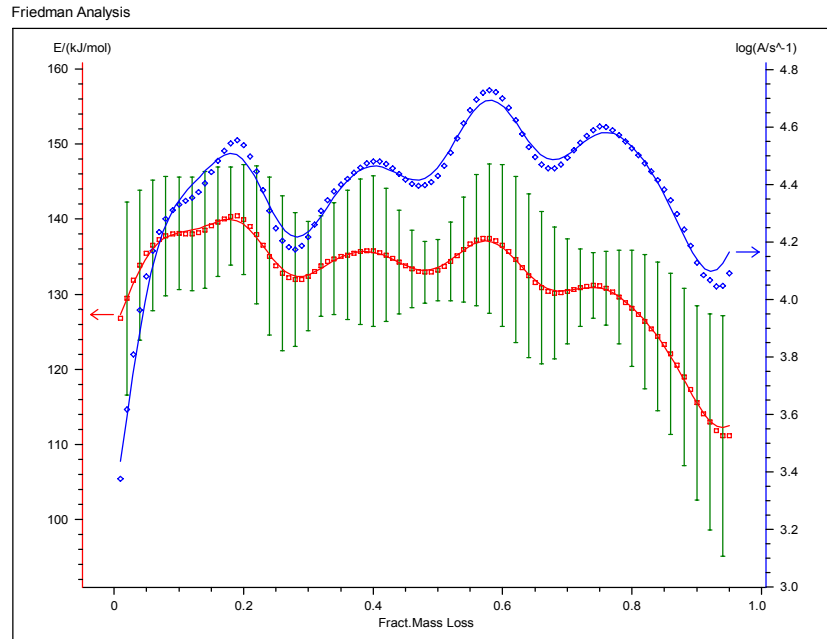


Fig. II.41. Dependențele lui E_{FR} de gradul de conversie pentru procesul de descompunere a CaCO_3 (reactia 3), pentru $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ etalon

4.2.2.2. Aplicarea metodei regresiei neliniare pentru procesele de deshidratare

Pentru determinarea mecanismului procesului de deshidratare și a parametrilor cinetici corespunzători s-a utilizat "Metoda regresiei neliniare", inclusă în Programul "Netzsch Thermokinetics: A Software Module for the Kinetic Analysis of Thermal Measurements", ce se bazează pe prezumția că valorile parametrilor cinetici nu depind de viteza de încălzire. Procedura este aplicată pentru obținerea mecanismului și parametrilor cinetici corespunzători, ce pot fi utilizați pentru predicții. Acest scop corespunde la "aspectul tehnic" al metodei regresiei neliniare.

S-au analizat cinetic procesele de deshidratare ale materialelor investigate care, conform rezultatelor obținute prin metodele izoconversionale, prezintă un mecanism cu o complexitate mai mică decât celelalte procese puse în evidență în termograme.

Expresiile funcțiilor de conversie caracteristice proceselor heterogene ce au loc în sistemul gaz-solid sunt arătate în tabelul II.11.

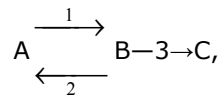
Au fost considerate schemele de reacție constând din reacții consecutive, paralele și/sau reversibile, date în Programul "Netzsch Thermokinetics: A Software Module for the Kinetic Analysis of Thermal Measurements". Valorile energiei de activare obținute prin metoda izoconversională diferențială FR au fost utilizate ca parametri inițiali pentru aplicarea metodei regresiei neliniare.

Tabelul II.11. Expresiile lui $f(\alpha)$ și $g(\alpha)$ caracteristice proceselor heterogene ce au loc în sistemul gaz-solid

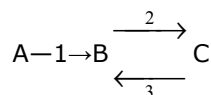
Mecanism	Simbol	$f(\alpha)$	$g(\alpha)$
Modelul ordinului de reacție	F_n^*	$(1-\alpha)^n$	$-\ln(1-\alpha)$, for $n = 1$ $\frac{1-(1-\alpha)^{(-n+1)}}{-n+1}$, for $n \neq 1$
Nucleație aleatorie și creștere a nucleelor (ecuația Avrami-Erofeev)	A_n	$n(1-\alpha)[- \ln(1-\alpha)]^{(1-1/n)}$	
Difuzie uni-dimensională (legea parabolică)	D_1	$\frac{1}{2\alpha}$	α^2
Difuzie bi-dimensională	D_2	$\frac{1}{[- \ln(1-\alpha)]}$	$(1-\alpha)\ln(1-\alpha) + \alpha$
Difuzie tri-dimensională (ecuația Jander)	D_3	$\frac{3(1-\alpha)^{2/3}}{2[1-(1-\alpha)^{1/3}]}$	$[1-(1-\alpha)^{1/3}]^2$
Difuzie tri-dimensională (ecuația Ginstein-Brounstein)	D_4	$\frac{3}{2[(1-\alpha)^{-1/3} - 1]}$	$\left(1 - \frac{2\alpha}{3}\right) - (1-\alpha)^{2/3}$
Modelul Prout-Tompkins	B_1	$\alpha(1-\alpha)$	$\ln \frac{\alpha}{1-\alpha}$
Šestak-Berrgren	$S(m,n)$	$f(\alpha) = \alpha^m (1-\alpha)^n$	

* $n = 1/2$ corespunde reacției controlate de micșorarea ariei;
 $n = 2/3$ corespunde reacției controlate de micșorarea volumului.

Prin rularea datelor termogravimetrice obținute la toate vitezele de încălzire la care s-au efectuat analizele termice și domeniul gradului de conversie $0,05 \leq \alpha \leq 0,95$, s-a obținut că deshidratarea $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ pur (etalon) și a calcului renal 1 este satisfăcător descrisă de schema:



pe când deshidratarea calculului 5 este satisfăcător descrisă de schema



(A, B și C sunt compuși solizi, iar 1, 2 și 3 desemnează etapele mecanismului de reacție). Parametrii cinetici corespunzători acestor reacții sunt arătați în tabelul II.12.

Tabelul II.12. Parametrii cinetici neizotermi obținuți printr metoda regresiei neliniare pentru deshidratarea probelor analizate

CaC ₂ O ₄ ·H ₂ O pur (etalon)		Calculul renal 1		Calculul renal 5	
$A \xrightarrow{1} B \xrightarrow{2} C$ $\xleftarrow{3}$ <p style="text-align: center;">FnFnFn</p>		$A \xrightarrow{1} B \xrightarrow{2} C$ $\xleftarrow{2}$ <p style="text-align: center;">FnFnFn</p>		$A \xrightarrow{1} B \xrightarrow{2} C$ $\xleftarrow{3}$ <p style="text-align: center;">FnFnFn</p>	
logA ₁ /s ⁻¹	8,30	logA ₁ /s ⁻¹	10,31	logA ₁ /s ⁻¹	9,31
E ₁ / kJ.mol ⁻¹	90,0	E ₁ / kJ.mol ⁻¹	89,0	E ₁ / kJ.mol ⁻¹	94,6
Ordinul reacției 1	0,44	Ordinul reacției 1	2,00	Ordinul reacției 1	0,14
logA ₂ /s ⁻¹	9,13	logA ₂ /s ⁻¹	14,25	logA ₂ /s ⁻¹	8,02
E ₂ / kJ.mol ⁻¹	151,4	E ₂ / kJ.mol ⁻¹	140,0	E ₂ / kJ.mol ⁻¹	88,7
Ordinul reacției 2	0,69	Ordinul reacției 2	0,24	Ordinul reacției 2	0,365
logA ₃ /s ⁻¹	10,09	logA ₃ /s ⁻¹	7,80	logA ₃ /s ⁻¹	6,09
E ₃ / kJ.mol ⁻¹	104,1	E ₃ / kJ.mol ⁻¹	86,1	E ₃ / kJ.mol ⁻¹	77,3
Ordinul reacției 3	0	Ordinul reacției 3	0,35	Ordinul reacției 3	2,00
Contribuția reacției. 1=2	0,15	Contribuția reacției. 1=2	0,01	Contribuția reacției. 1	0,40
r	0,99970	r	0,99964	r	0,99982

Pentru aceste mecanisme și parametrii cinetici prezentați în Tabelul II.12, au fost calculate curbele TG. Așa cum rezultă din figurile II.42. - II.44. datele experimentale TG se așează pe curbele TG calculate.

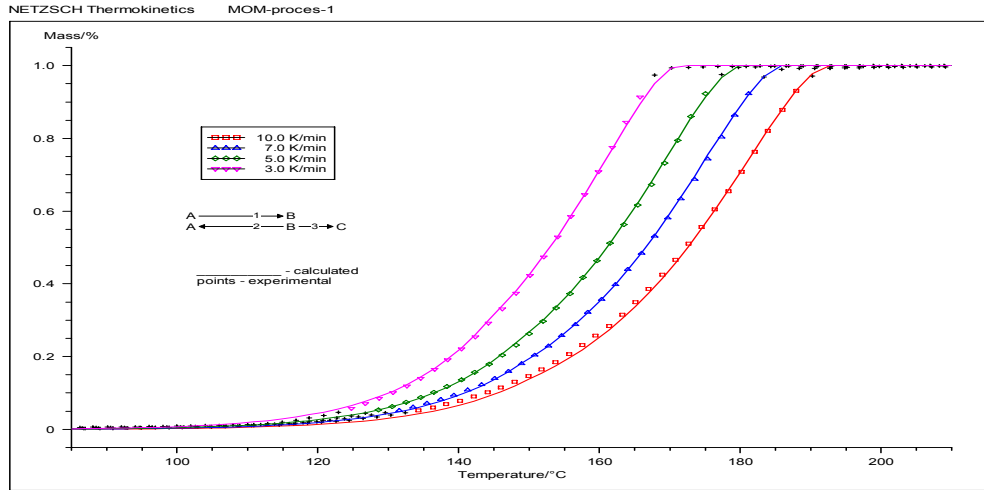


Fig. II.42. Verificarea modelului cinetic și a parametrilor cinetici corespunzători pentru $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (etalon)

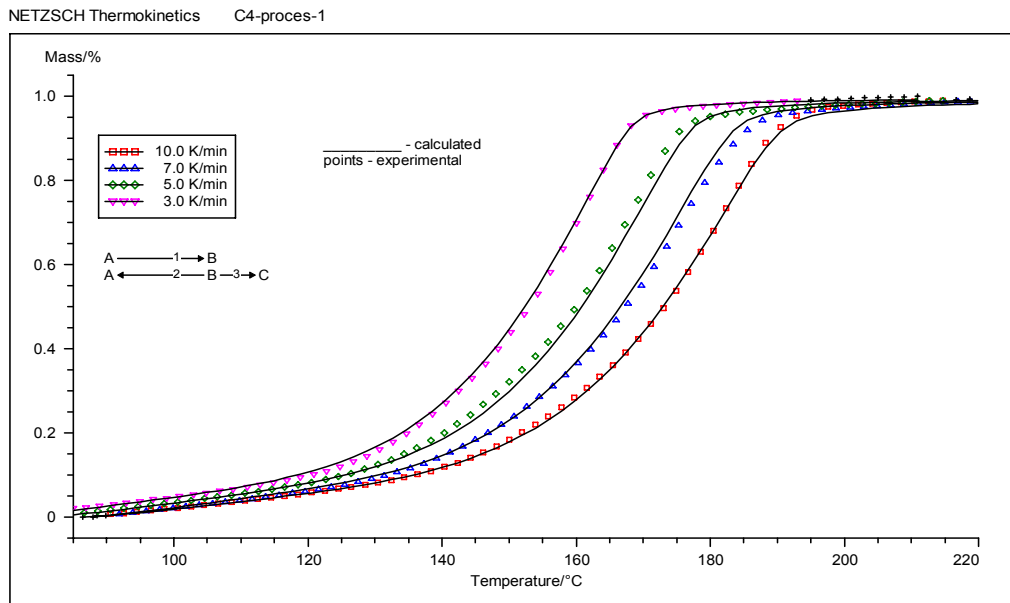


Fig. II.43. Verificarea modelului cinetic și a parametrilor cinetici corespunzători pentru calculul 1

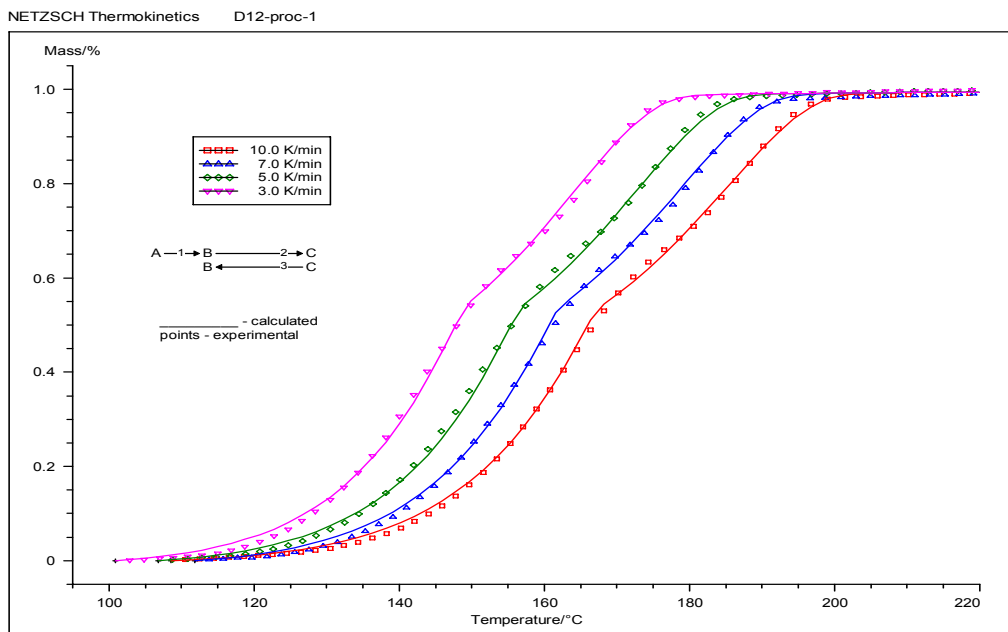


Fig. II.44. Verificarea modelului cinetic și a parametrilor cinetici corespunzători pentru calculul 5

Analiza datelor prezentate în Tabelul II.12 și Figurile II.42. – II.44. arată următoarele:

- $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ pur (etalon) și calculul renal 1 ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 1,1\text{H}_2\text{O}$), prezintă același mecanism al procesului de deshidratare. Pentru aceste materiale se verifică modelul cinetic propus de Vyazovkin și Linert [206] pentru deshidratarea cristalohidraților (reacție reversibilă urmată de un proces ireversibil).
- Mecanismul procesului de deshidratare a calculului renal 5 ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 1,8\text{H}_2\text{O}$) este diferit de cel al $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ pur (etalon) și calculului renal 1 ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 1,1\text{H}_2\text{O}$).
- Dependența energiei de activare de gradul de conversie arată că proceselor de deshidratare a probelor investigate sunt complexe, constând din reacții consecutive, paralele și/sau reversibile.
- Valorile parametrilor cinetici ai procesului de deshidratare sunt specifice fiecărei probe investigate.
- Programul aplicat care folosește testul F, permite găsirea modelului care realizează cea mai bună fitare între curbele TG calculate și experimentale.

4.3. Analiza spectroscopică în infraroșu

Spectroscopia în infraroșu (IR) este o metodă fizico-chimică adecvată, care a fost utilizată în ultimii treizeci de ani, pentru investigarea compoziției și structurii calculilor renali. Identificarea componentelor calculilor se face prin compararea cu spectre ale etaloanelor din librării avansate. Spectroscopia FT-IR care utilizează tabletele de KBr este metoda curentă pentru analiza compoziției calculilor urinari în laborator. Aplicarea acestei tehnici poate oferi informații asupra unor calculi falși, a unor calculi cu conținut de medicamente sau metaboliți.

Pentru a îmbunătăți identificarea diferitelor faze prezente în calculi, se poate utiliza derivata a doua a spectrelor de absorbție în infraroșu [29, 157]. Derivata a doua (2DR) reprezintă un procedeu utilizat pentru identificarea și evaluarea diferitelor substanțe organice și anorganice. Avantajul spectrelor cu derivată a doua este esențial pentru rezoluția spectrală deoarece liniile sunt intrinsec mai înguste decât liniile de absorbție uzuale. Aceasta asigură departajarea peak-urilor foarte apropiate sau suprapuse. Astfel, două sau mai multe benzi incluse într-o singură bandă, pot fi singularizate prin această metodă.

Spectroscopia FTIR împreună cu derivata a doua oferă analistului o bună metodă pentru determinarea compoziției calculilor (calitativ și semi-cantitativ).

În investigațiile noastre, aplicarea acestei metode s-a realizat utilizând înregistrările spectrelor compușilor puri de: acid oxalic, oxalați, fosfați, carbonați, acid uric și xantină (Anexa 2). Această teză prezintă o serie de aspecte particulare referitoare la folosirea metodei spectroscopice în infraroșu cu transformată Fourier (FT-IR) la studiul compoziției calculilor reno-urinari.

Compușii prezenți în calculii urinari pot fi de natură organică (acid oxalic, acid uric, xantini, cistina, colesterol) sau/și anorganică (fosfați, carbonați).

Prin compararea spectrelor calculilor cu spectrele unor etaloane a fost posibilă determinarea compoziției calitative a calculilor urinari simpli și/sau micști. Intensitatea benzilor IR oferă informații privind prezența unei anumite componente în calcul.

Au fost identificați cei 18 calculi (simpli sau micști) prin comparare cu etaloanele corespunzătoare (vezi tabel II.13 și Anexa 2). Calculii micști de tip oxalat monohidrat-oxalat dihidrat [29, 157] și oxalat-urat respectiv oxalat-fosfat au fost pentru prima dată identificați utilizând derivata a doua a spectrelor FT-IR. În tabelul II.13 sunt prezentate numerele de undă atribuite benzilor caracteristice etaloanelor (COM- oxalat de calciu monohidrat, COD- oxalat de calciu dihidrat, UA- acid uric, CAP- carbonatapatita) și atribuirile acestora.

Tabel II.13. Benzile caracteristice compusilor etalon

Etaloane	Benzi semnificative [cm^{-1}]
Standard COM	1624 (ν_{asCO}); 1321 ($\nu_{\text{s CO}}$) 783 ($\delta_{\text{O-H}}$ în afara planului); 670 și 520,7 ($\nu_{\text{s CO}}$)
Standard COD	1650,8 (ν_{asCO}); 1329,7 (ν_{sCO}); 790,5 ($\delta_{\text{O-H}}$ în afara planului); 521 ($\nu_{\text{s CO}}$)
Standard UA	1678,7 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1594 ($\nu_{\text{C=O}} + \nu_{\text{C=N}}$); 1352; 1312; 1125; 1028,8; 994; 788,7; 709,7; 621,9; 577,5; 525,5; 477; 700 – 800 (vibrații ale purinei); 990 – 1150 (vibrație caracteristică inelului)
Standard CAP	564 ($\nu_{\text{4 PO}_4}$); 606 (vibrații ale rețelei); 1040 cu un umăr la 1106,9 (ν_{asPO_4}); 966,2; 1652,3; 879,4

Calculi de tip oxalați

Spectrul FT-IR al calculului 1 (figura II.45) prezintă linii de absorbție în intervalul 3000-3600 cm^{-1} caracteristice vibrațiilor legăturilor -OH din apa, două benzi intense la 1622 cm^{-1} respectiv 1317 cm^{-1} caracteristice vibrațiilor de legătură simetrice și anti-simetrice a legăturii C-O corespunzătoare grupării oxalat coordonate. La 781 cm^{-1} este prezentă o bandă caracteristică vibrațiilor O-H, iar în intervalul 700-400 cm^{-1} apar o serie de benzi mai puțin intense caracteristice vibrațiilor legăturii M-O.

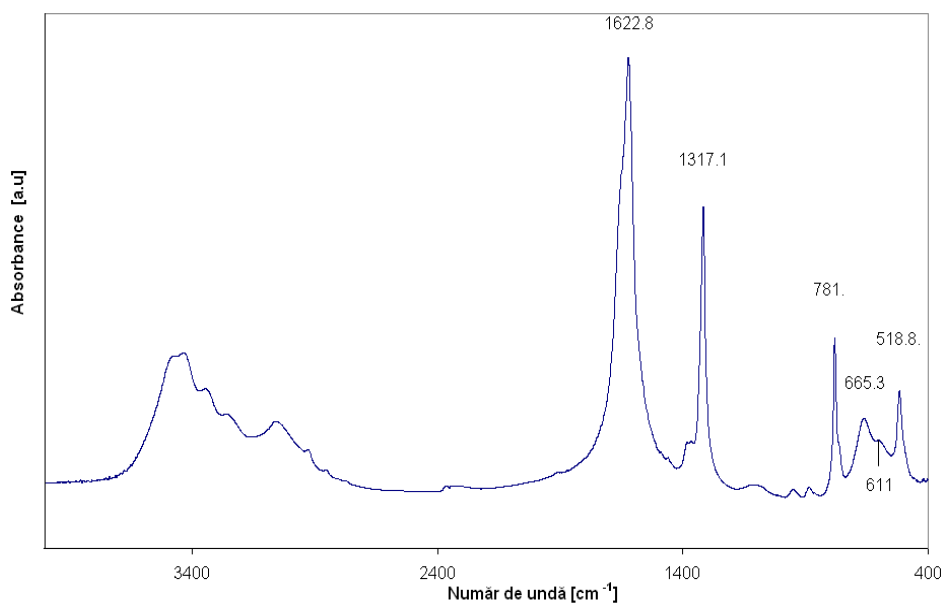


Fig II.45. Spectrele FT-IR ale calculului 1

Conform celor prezentate în tabelul II.4 și în acord cu literatura de specialitate [207] rezulta că, calculul studiat este constituit din oxalat de calciu monohidrat, $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$.

Spectrul FT-IR caracteristic calculului 2 (fig II.46) prezintă pe lângă benzile caracteristice COM o serie de benzi suplimentare caracteristice substanțelor organice. Astfel, în domeniul 2800-3000 cm^{-1} apar două benzi caracteristice vibrațiilor legăturii C-H. În domeniul 900-1200 cm^{-1} apare o bandă largă de intensitate redusă care se poate datora vibrațiilor caracteristice inelului purinic din faza organică.

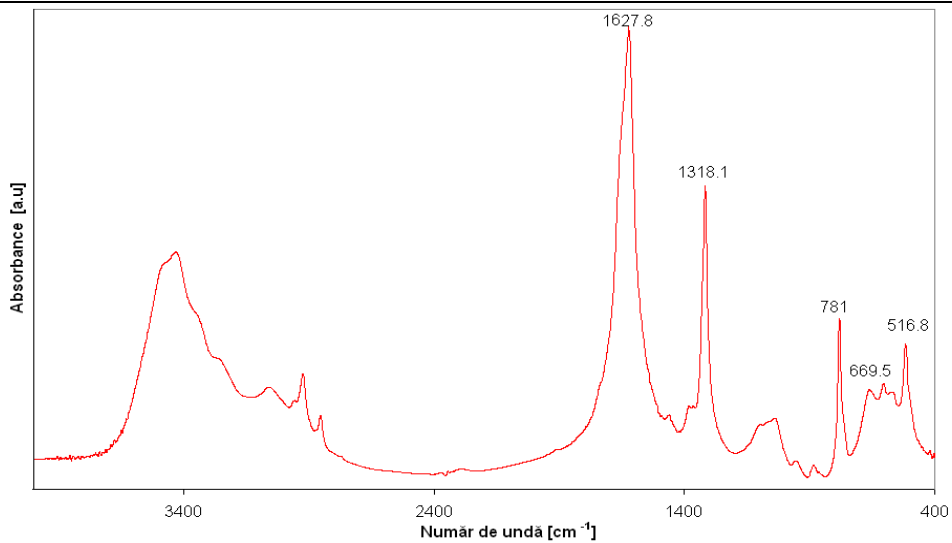


Fig II.46. Spectrul FT-IR al calculului 2

În concluzie acest calcul conține pe langa COM și o fază organică în concordanță cu rezultatele analizei termice.

Calculul 3 al cărui spectru FT-IR este prezentat în figura II.47 prezintă aceleași benzi de vibrație ca și calculii 1 și 2, deci este tot de tip COM. Conform rezultatelor analizei termice acest calcul conține pe langa COM și o fază inertă, prezenta în proporție mică nefiind identificată în spectrul FT-IR.

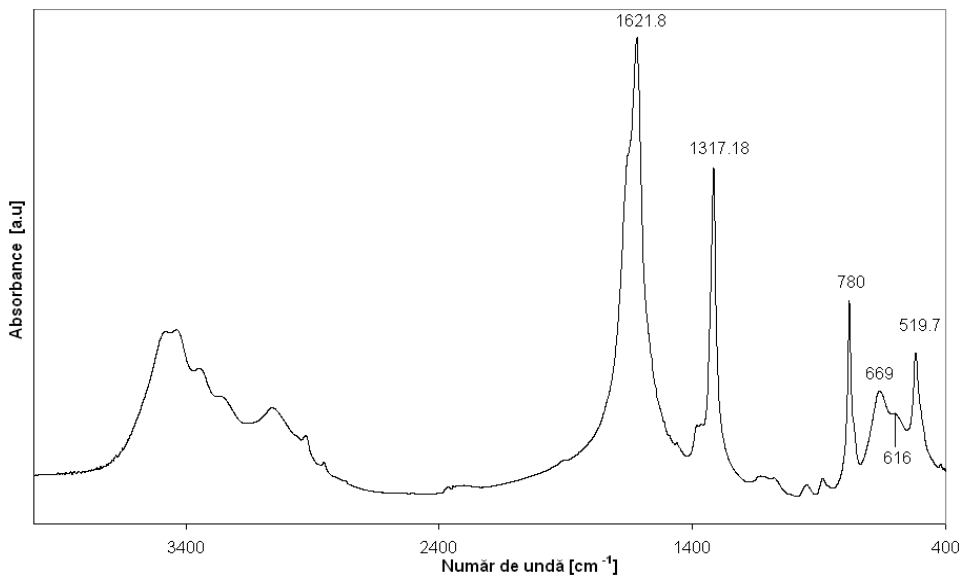


Fig II.47. Spectrul FT-IR al calculului 3

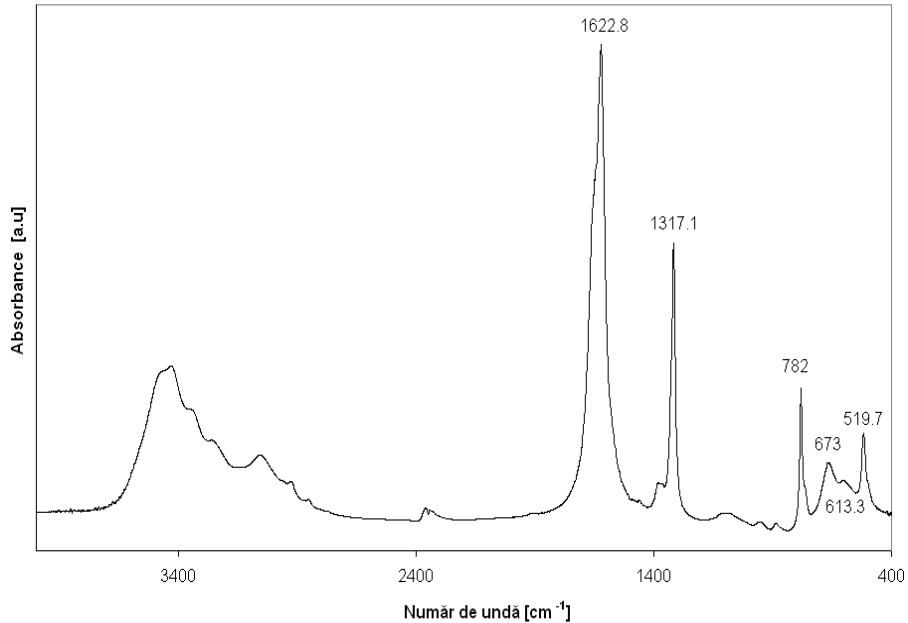


Fig II.48. Spectrul FT-IR al calculului 4

Din spectrul FT-IR al calculului 4 rezultă că acesta este constituit din COM, prezentând și benzi în domeniul $2800-3000\text{ cm}^{-1}$ atribuite prezenței unor impurități organice puse în evidență și prin analiza termică.

Gradul de hidratare al oxalatului de calciu manohidrat este indicat prin două benzi situate în domeniul $850-950\text{ cm}^{-1}$.

Calculii 5÷8, care au fost identificați prin analiza termică, ca fiind calculi simpli de oxalat de calciu dihidrat sau calculi micști de COM+COD. Acești calculi au fost analizați prin spectroscopie FT-IR prin comparare cu spectrele etalon, iar calculul 8 a fost analizat utilizând și derivata a doua a spectrului de absorbție IR.

Spectrul FT-IR din figura II.49 caracteristic calculului 5 prezintă o bandă largă (nesplittată) în domeniul $3600-3000\text{ cm}^{-1}$ caracteristică vibrațiilor legăturilor O-H din apă, comparativ cu calculii 1-4. În spectru apar două benzi intense la 1646 cm^{-1} respectiv 1324 cm^{-1} caracteristice vibrațiilor legăturii C-O, la 783 cm^{-1} o bandă caracteristică vibrațiilor O-H, iar în intervalul $700-400\text{ cm}^{-1}$ apar o serie de benzi mai puțin intense caracteristice vibrațiilor legăturii M-O [29].

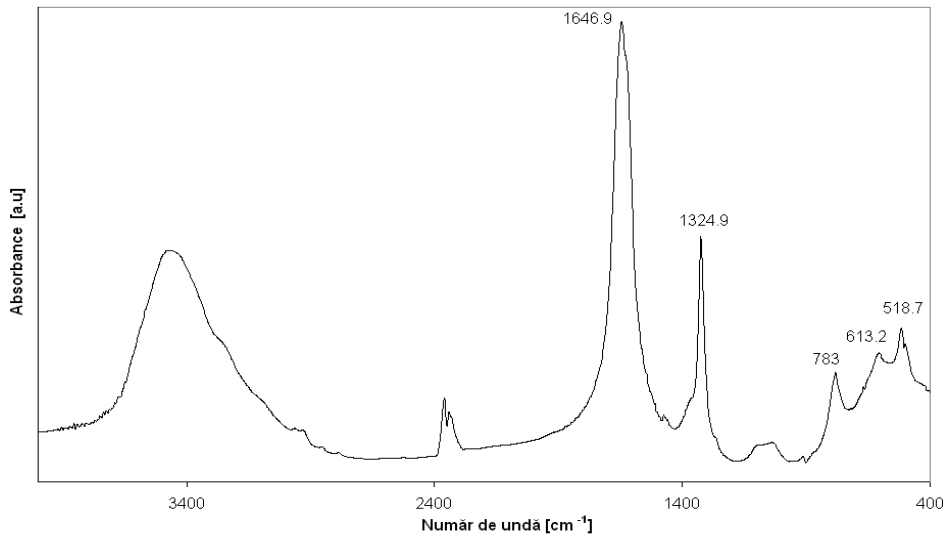


Fig II.49. Spectrul FT-IR al calculului 5

În concluzie acest calcul conține ca și constituent principal COD, confirmând rezultatele analizei termice.

Spectrul FT-IR al calculului 6 (fig.II.50) prezintă pe lângă benzile caracteristice oxalatului de calciu dihidrat și două benzi slabe în domeniul 2800-3000 cm⁻¹, care pot fi atribuite prezentei unor impurități organice. De asemenea banda corespunzătoare vibrațiilor legăturilor -OH din apa devine asimetrică și ușor splitată, ceea ce ar putea fi un indice al prezentei în cantități foarte mici a COM [208, 209].

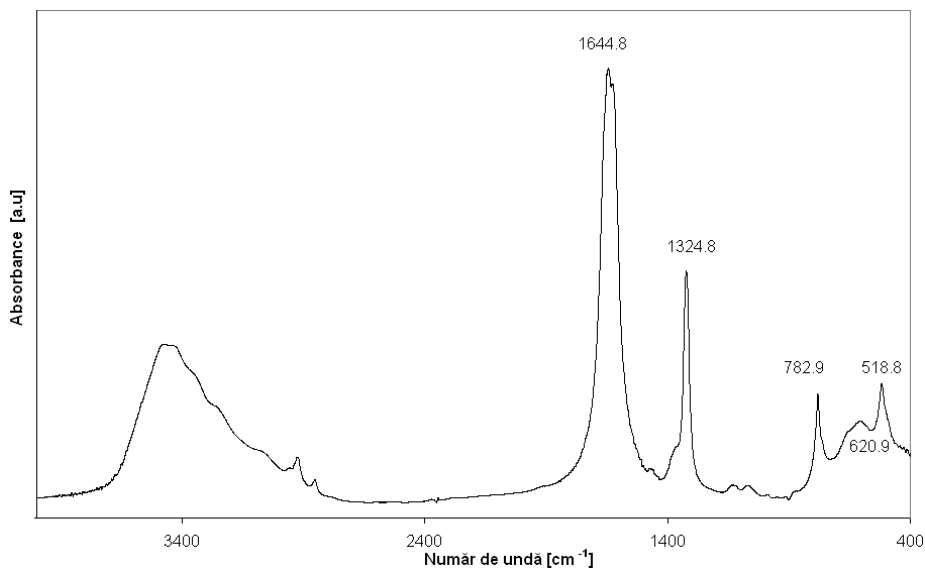


Fig II.50. Spectrul FT-IR al calculului 6

În cazul calculului 7 (fig.II.51) pe lângă benzile caracteristice COD precum și impuritatilor organice, se mai observă în domeniul $1000-1200\text{ cm}^{-1}$ o bandă largă care ar putea fi atribuită vibrațiilor legăturilor Si-O-Si, ceea ce indică prezența pe lângă impuritățile organice și a unor impurități inerte termic. Prin urmare acest calcul prezintă o compoziție complexă, de tip COD + organic + inert și posibil COM (banda asimetrică în domeniul $3000-3600\text{ cm}^{-1}$).

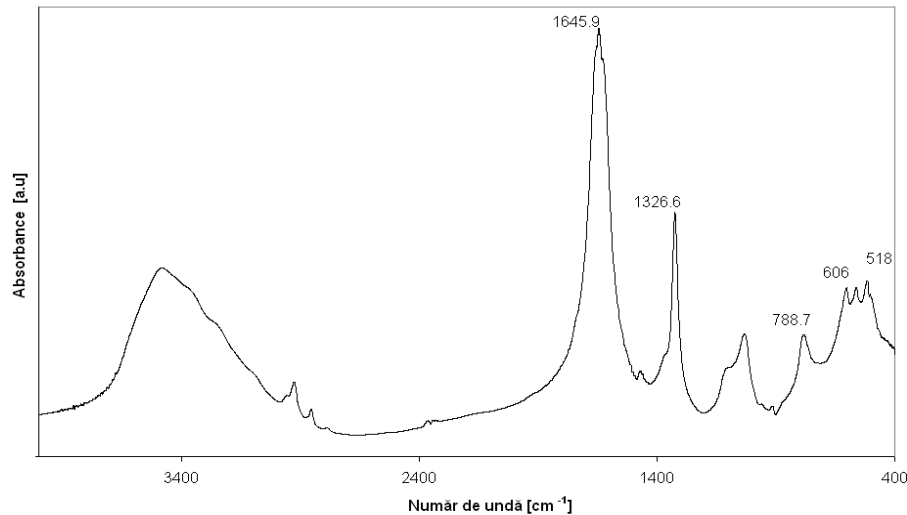


Fig II.51. Spectrul FT-IR al calculului 7

Spectrul FT-IR al calculului 8 (figura II.52) prezintă aceleași caracteristici cu spectrul calculului 7, astfel că putem afirma că cei doi calculi prezintă compoziții asemănătoare ceea ce este în acord cu concluziile analizei termice și ar putea să conțină și oxalat de calciu monohidrat. În acest caz s-a calculat derivata a doua a spectrului FT-IR.

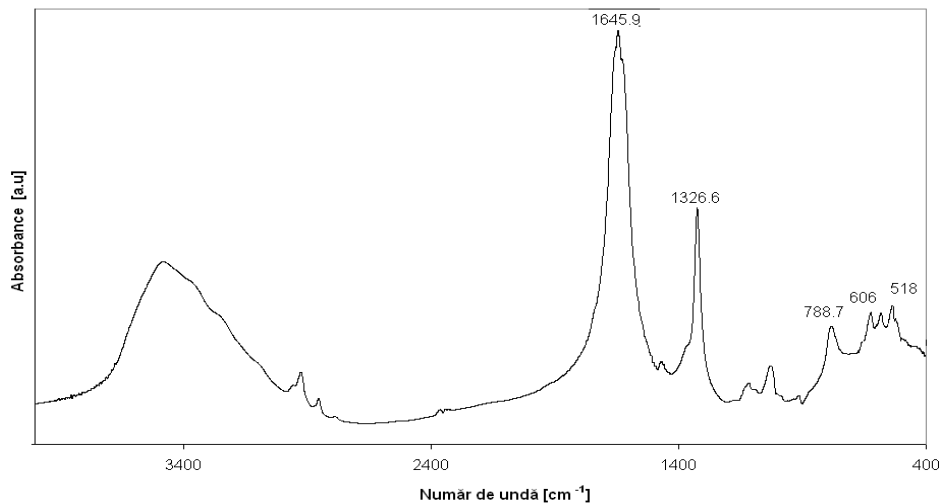


Fig II.52. Spectrul FT-IR al calculului 8

Calculi micști de tip oxalați

Pentru a elucida compoziția calculilor micști s-a recurs **la derivata a doua a spectrelor FT-IR**, foarte utilă în cazul în care există benzi suprapuse.

Reprezentarea a derivatei a doua a spectrelor absorbantei pentru unele benzi selectate în anumite domenii de numere de undă în care benzile sunt suprapuse, prelucrarea analitică poate fi obținută prin identificarea semnalelor caracteristice pentru anumiți compuși.

În figura II.53 se prezintă spectrele FT-IR ale calculului 1 și etalonului COM, respectiv ale calculului 5 și etalonului COD comparativ cu spectrul FT-IR al calculului mixt 8.

Prin compararea benzilor de absorbție din domeniul $400\text{-}2000\text{ cm}^{-1}$ a calculilor 1 și 5 cu cele ale etaloanelor COM și/sau COD se poate observa că ambii calculi sunt simpli iar calculul 1 este de tip COM și calculul 5 este de tip COD.

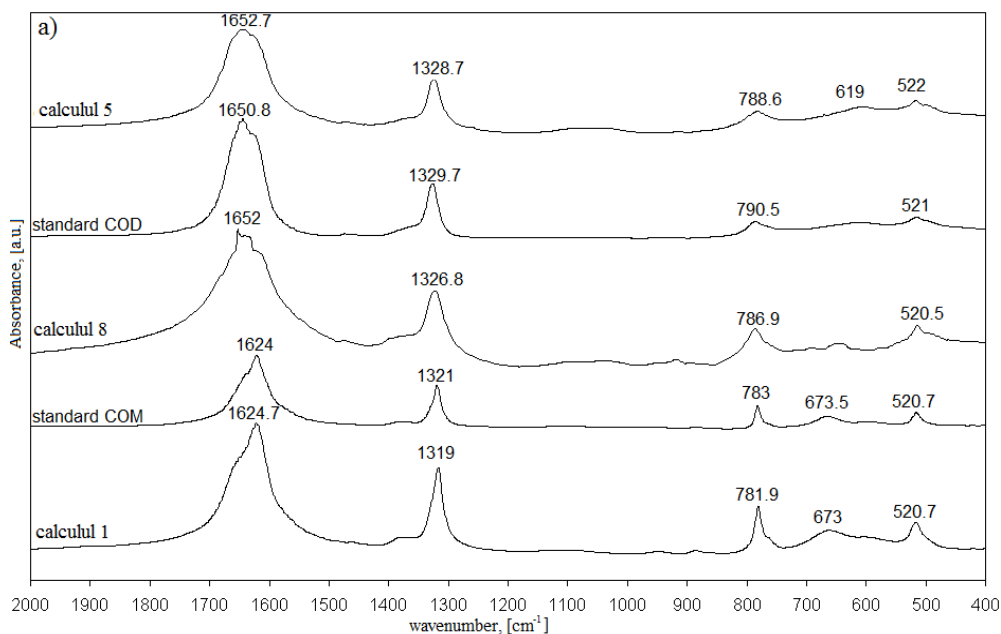


Fig. II.53. Spectrele FT-IR ale standardelor COM, COD și a calculilor 1, 5 și 8

În cazul calculului 8, benzile de vibrație sunt mult mai largi și prezintă umeri (banda ν_{asCO} în domeniul $1600\text{-}1700\text{ cm}^{-1}$), ceea ce înseamnă că acest calcul nu este un calcul simplu [157].

Pentru a determina compoziția acestui calcul s-a calculat derivata a doua a spectrului FT-IR în domeniul $700\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$ (fig. II.54). Cele mai edificatoare benzi ale derivatei a doua a spectrelor de absorbanta sunt ν_{sCO} ($1320\text{-}1330\text{ cm}^{-1}$) și $\delta_{\text{O-H}}$ ($\sim 780\text{ cm}^{-1}$) [29].

Prin compararea acestor benzi cu cele ale etaloanelor, pentru calculii 1 și 5 derivata a doua arată clar că aceștia sunt de tip COM, respectiv COD.

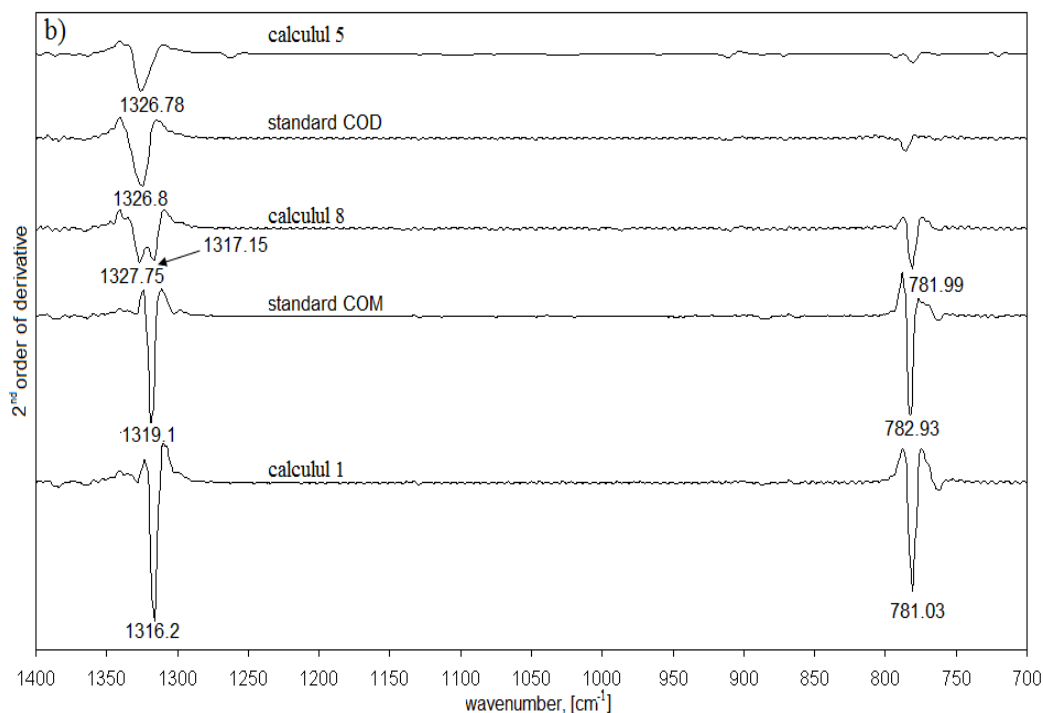


Fig. II.54. Derivata a doua a spectrelor FT-IR ale etaloanelor COM, COD și a calculilor 1, 5 și 8

Pentru calculul 8 spectrul derivatei a doua a benzii ν_{sCO} de la ~ 1320 cm^{-1} este împărțită în două picuri la 1317,5 și 1328 cm^{-1} , iar banda δ_{O-H} de la ~ 782 cm^{-1} scade în intensitate, comparativ cu standardul COM. Aceasta informație confirmă faptul că, calculul 8 este un amestec de COM-COD.

Calculi de tip urat

În figurile II.55 și II.56 sunt prezentate spectrele FT-IR ale calculilor 9 și 10, care conform rezultatelor din analiza termică fac parte din clasa acidului uric.

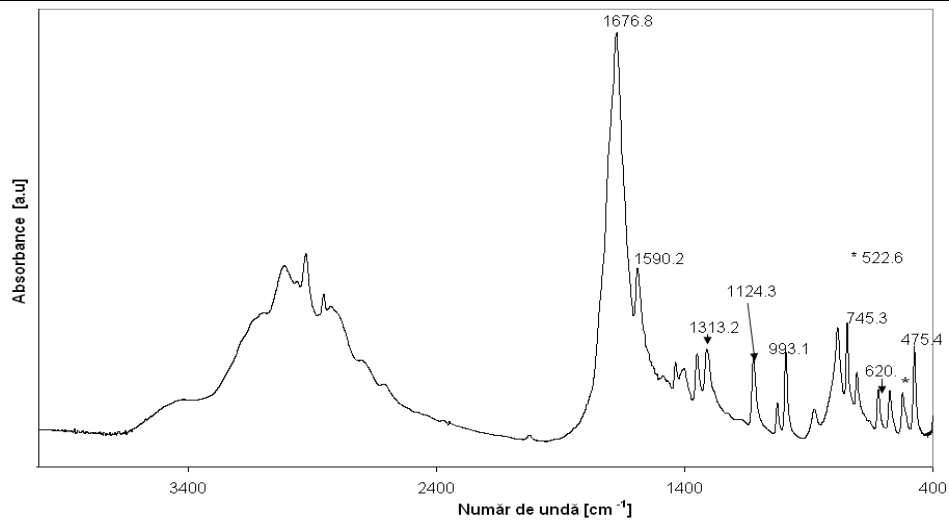


Fig. II.55. Spectrul FT-IR al calculului 9

Spectrul calculului 9 prezintă un număr mare de benzi intense în domeniul 400-1600 cm⁻¹ caracteristice acidului uric, ce corespund cu cele ale etalonului de acid uric (tabelul II.13 și Anexa 2). Benzile de la 1311, 1124, 1029 și 760 cm⁻¹ corespund legăturii N-H, ceea ce indică prezența acidului uric în calcul. În domeniul 3445-3515 cm⁻¹ nu apare nici o bandă caracteristică apei, ceea ce arată că, calculul are o compoziție de acid uric anhidru. În spectru apare o bandă intensă la 1676 cm⁻¹ caracteristică vibrațiilor legăturii C=O, iar în domeniul 2800-3200 cm⁻¹ apar benzi caracteristice inelului purinic [29].

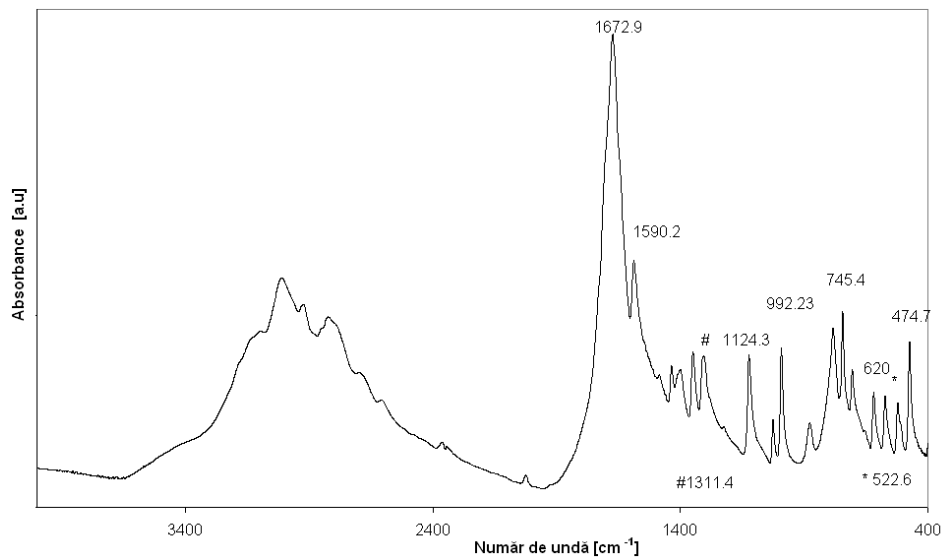


Fig. II.56. Spectrul FT-IR al calculului 10

Spectrul FT-IR al calculului 10 prezintă aceleași caracteristici cu spectrul calculului 9, astfel că putem afirma că cei doi calculi prezintă compoziții similare ceea ce este în acord cu concluziile analizei termice.

Calculi micști de tip oxalat- urat

Ca și în cazul calculilor micști de tip oxalat de calciu monohidrat și dihidrat, și în acest caz am utilizat derivata a doua a spectrelor FT-IR.

Figura II.57. prezintă spectrele FT-IR ale standardelor COM și UA și a calculilor 11 și 12 în domeniul $400-2000\text{ cm}^{-1}$. Spectrele etaloanelor sunt diferite, dar în același timp spectrul benzilor de absorbție se suprapun cu cele ale acidului uric. Calculul 11 prezintă un spectru aproape similar cu cel al etalonului de UA, ceea ce confirmă că, acesta are în compoziția lui o proporție mai mare de acid uric, ce confirmă rezultatele obținute din analiza termică. Spectrul de absorbție al calculului 12 prezintă o bandă despicată în două picuri la 1625 și 1672 cm^{-1} și două benzi intense la 1318 și 783 cm^{-1} caracteristice oxalatului de calciu, precum și benzi ale acidului uric [210].

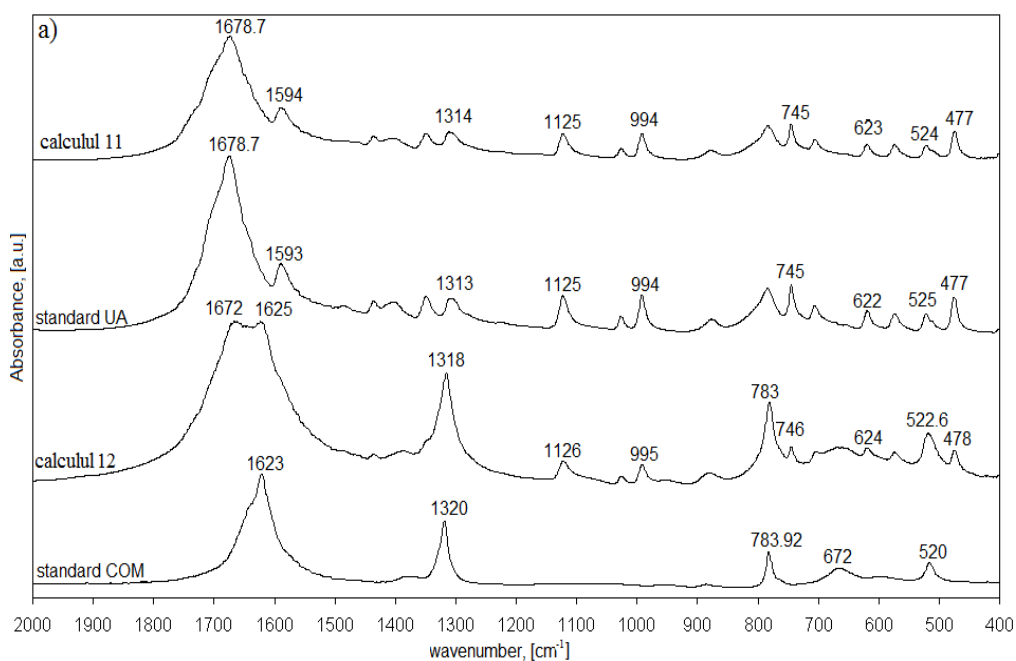


Fig. II.57. Spectrele FT-IR ale etaloanelor COM și UA și ale calculilor 11 și 12

Din aceste observații se poate confirma că, calculul 12 este unul mixt de COM-UA. Acest lucru se poate demonstra cu ajutorul derivatei a doua a spectrelor de absorbție [211], calculată pentru domeniul $400-1400\text{ cm}^{-1}$ (Fig. II.58).

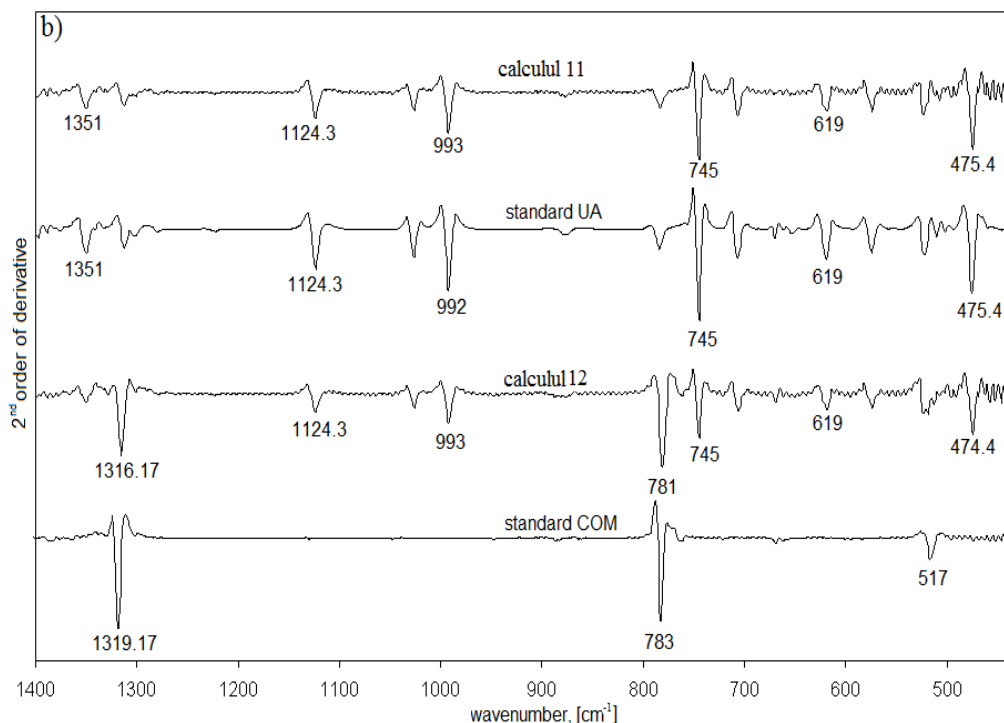


Fig. II.58. Derivata a doua a spectrelor FT-IR ale etaloanelor COM, UA și a calculilor 11 și 12

În spectrele de absorbție ale derivatei a doua se observă benzile corespunzătoare COM la ~ 1317 și 781 cm^{-1} , precum și benzile caracteristice acidului uric la ~ 992 , 745 și 475 cm^{-1} de intensități mai mici față de etalonul UA. Din evoluția spectrului derivatei a doua pe domeniul $400\text{-}1400 \text{ cm}^{-1}$ se confirmă că cei doi calculi sunt micști de tip oxalat-urat.

Calculi de tip fosfat

Spectrul FT-IR al calculului 13 (Fig.II.59.) care prezintă benzi semnificative la 1648 , 1442 , 572 cm^{-1} cu splitare la $605,6 \text{ cm}^{-1}$ și o bandă de mare intensitate între $1100\text{-}1000 \text{ cm}^{-1}$ indică faptul că acest calcul conține în compoziția sa ionul fosfat [212, 213]. Prezența benzilor din domeniul $2800\text{-}3000 \text{ cm}^{-1}$ sugerează prezența unor impurități organice [214]

Calculii 14 și 15 prezintă spectre similare (Fig.II.60. și II.61.) cu cele ale calculului 13, ceea ce îi încadrează tot în clasa fosfaților.

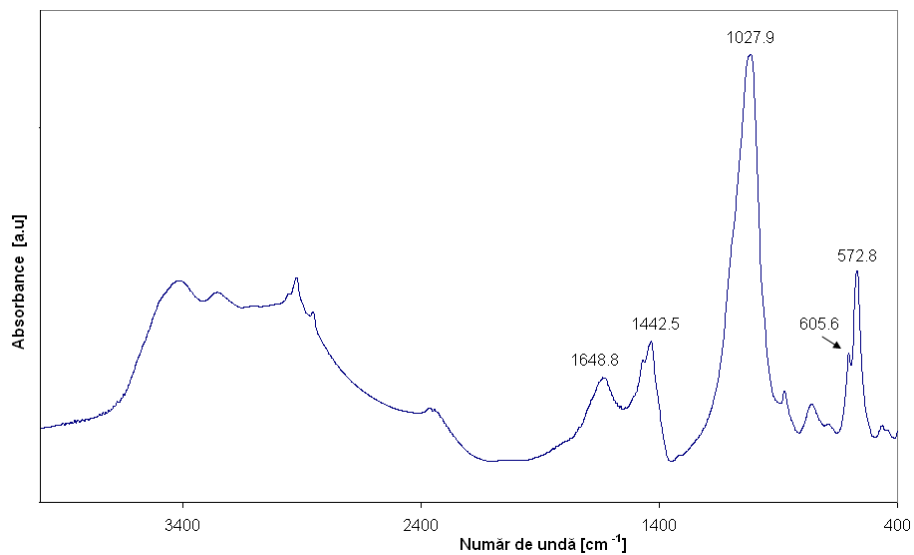


Fig. II.59. Spectrul FT-IR al calculului 13

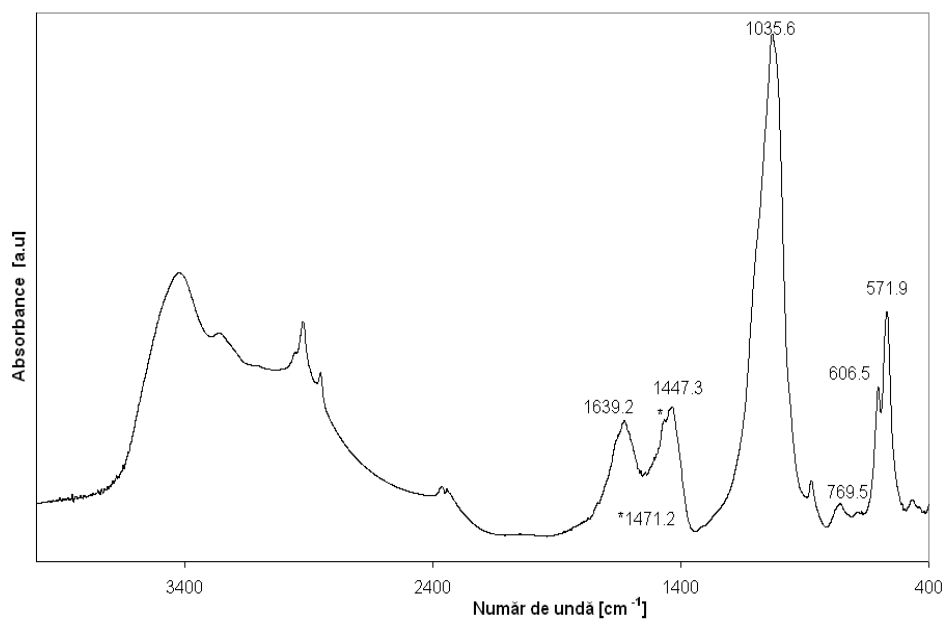


Fig. II.60. Spectrul FT-IR al calculului 14

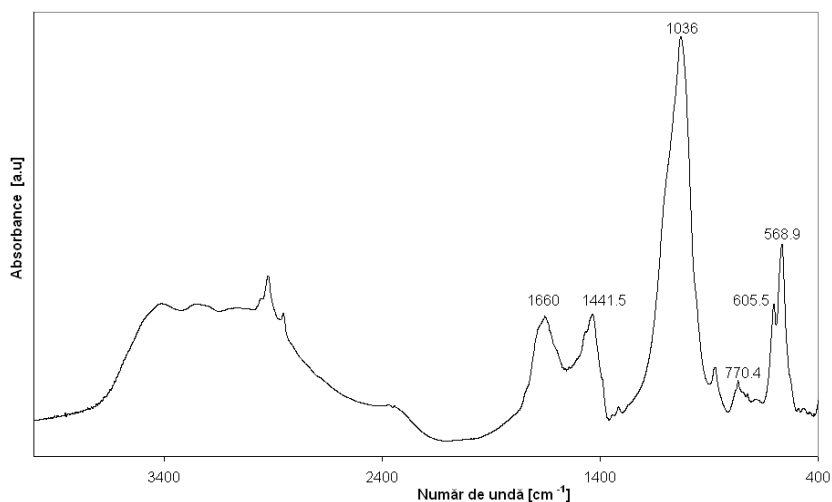


Fig. II.61. Spectrul FT-IR al calculului 15

Ținând cont de rezultatele analizei termice, unde s-a aratat că, calculii 13 și 14 sunt calculi fosfatici de tip newberit, iar calculul 15 este un calcul fosfatic de tip struvit, din spectrele FT-IR această constatare este dificil de precizat.

Calculi micști de tip fosfat-oxalat

Spectrele FT-IR ale calculilor 17 (fig. II.62.) și 18 (fig. II.63.) sunt asemănătoare și scot în evidență prezența în amestec a fosfatului de magneziu (1039, 606, 657 cm⁻¹) și a oxalatului de calciu (1624, 1317 cm⁻¹). Din intensitatea relativa a benzilor de la ~ 1640 și ~1440 cm⁻¹ reiese ca în cazul calculului 17 oxalatul este prezent în proporție mai mare decât în cazul calculului 18.

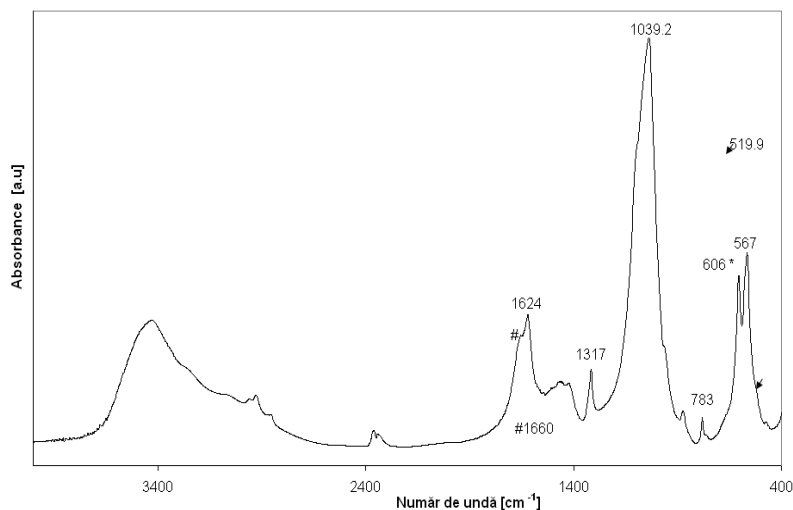


Fig. II.62. Spectrul FT-IR al calculului 17

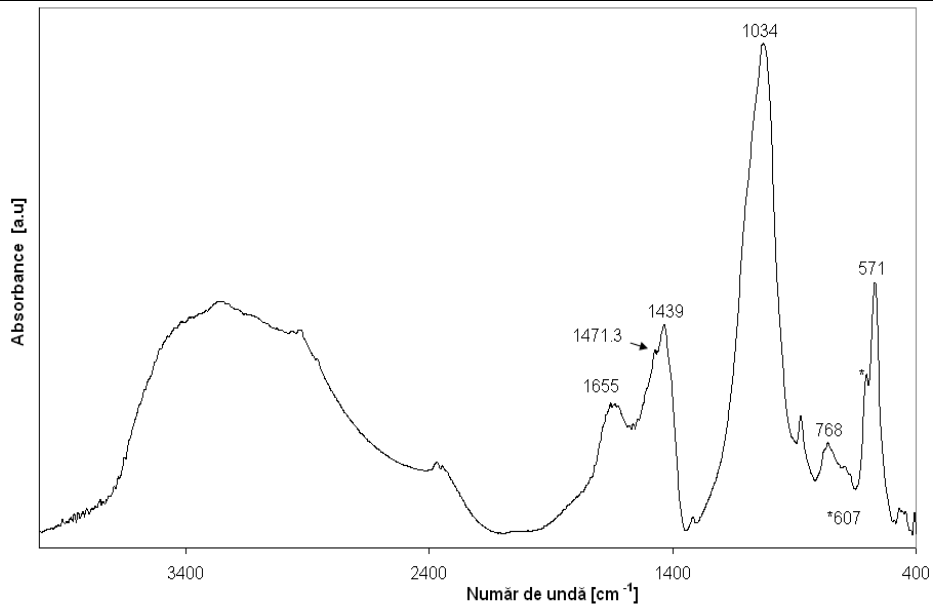


Fig. II.63. Spectrul FT-IR al calculului 18

Pentru a se demonstra că cei doi calculi conțin cele două faze de oxalat de calciu și fosfat s-a apelat la calcularea derivatei a doua a spectrelor de absorbție în infraroșu [211].

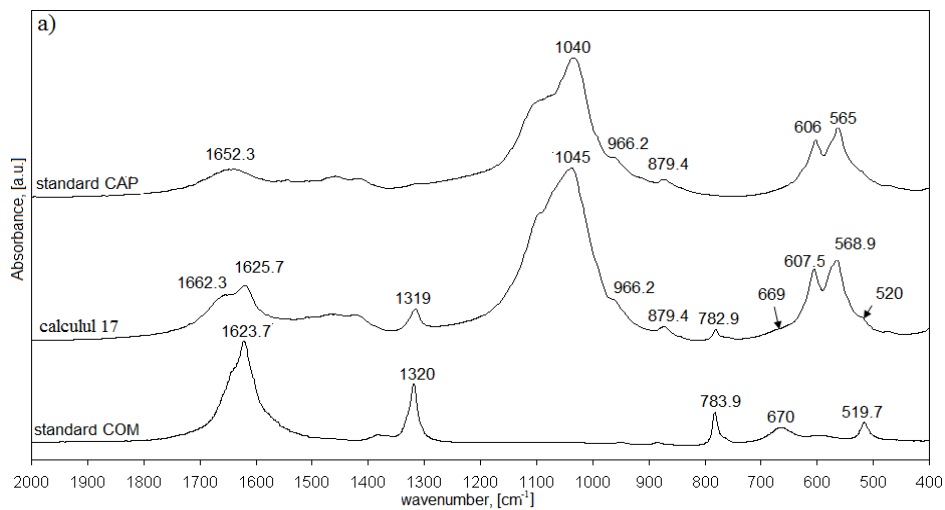


Fig. II.64. Spectrele FT-IR ale etaloanelor COM și CAP și a calculului 17

În figura II.64. sunt prezentate spectrele FT-IR ale etaloanelor COM, CAP și a calculului 17 în domeniul $400-2000\text{ cm}^{-1}$. Prin compararea spectrului de absorbție a calculului 17 cu spectrele etaloanelor (CAP și COM) se confirmă că este un calcul mixt a cărui compoziție conține oxalat de calciu monohidrat și carbonatapatita.

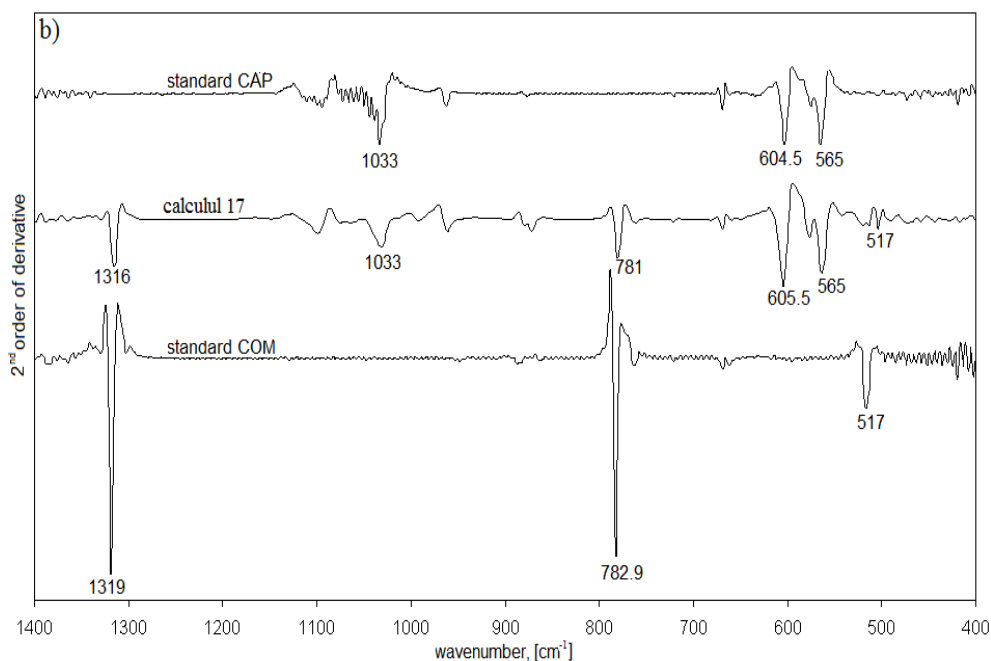


Fig. II.65. Derivata a doua a spectrelor FT-IR ale etaloanelor COM și CAP și a calculului 17

Spectrul derivatei a doua prezentat în figura II.65. confirmă compoziția mixtă a acestui calcul prin benzile clare și intense de la 1316 , 781 și 517 cm^{-1} corespunzătoare $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ și prin benzile de la 1033 , 605 și 565 cm^{-1} corespunzătoare carbonatapatitei.

Concluzii

Metoda de analiză a calculilor prin spectroscopia FT-IR este cea mai utilizată în determinarea compoziției (calitative) a calculilor urinari simpli prin compararea spectrelor cu spectre pentru compușii etalon, oferind informații referitoare și la componenți care se găsesc în stare amorfă.

Rezultatele obținute prin spectroscopia FT-IR a celor 18 calculi investigați conduc la concluzia că, în cazul calculilor unari componenții pot fi identificați cu o bună precizie din benzile de vibrație caracteristice fiecărui compus pur.

În cazul calculilor micști, identificarea este mult mai dificilă datorită suprapunerii unor benzi caracteristice, mai ales la calculii micști de tip oxalat de calciu monohidrat- oxalat de calciu dihidrat, oxalat-acid uric și oxalat-fosfat.

Utilizarea derivatei a doua a spectrelor de absorbție FT-IR pentru calculi micști de tip oxalați a condus la identificarea unui amestec de COM și COD.

Pentru prima dată s-a utilizat derivata a doua la identificarea componentelor din calculii micști de tip COM+AU, respectiv COM+CAP.

Metoda spectroscopică FT-IR este o metodă mai rapidă decât analiza termică, pentru identificarea componentelor, dar este mai dificil de utilizat în analiza cantitativă.

Utilizarea spectroscopiei FT-IR are avantajul că necesită cantități foarte mici de substanță.

Comparativ cu rezultatele obținute prin analiza termică, spectroscopia FT-IR oferă informații calitative mai complete în cazul calculilor micști de tip COM+COD.

4.4. Difractometria de raze X

Abordarea concretă a descrierii proceselor și fenomenelor ce apar la formarea cristalelor în vederea explicării legăturii dintre proprietățile, structura și condițiile lor de creștere, cunoașterea profundă a variatelor aspecte ale cristalelor, ca o problemă unică și complexă, cercetarea acestor probleme în ansamblul lor, constituie o certă necesitate pentru studiul litiazei reno-urinare.

Difractogramele permit identificarea și dozarea multor substanțe cristaline, evidențierea unor defecte cristaline, determinarea sistemului cristalin, corelarea cu unele proprietăți de importanță științifică. La concrețiunile reno-urinare cu compoziție mixtă (cel mai frecvent întâlniți în practică) procesul de cristalizare este foarte complex, iar pentru elucidarea acestuia este necesară utilizarea metodei de difracție de raze X [215, 216].

Spectrele de difracție pot fi considerate ca o amprentă digitală a substanței cercetate. Interpretarea spectrelor RX are la bază cunoașterea caracteristicilor difractometrice ale substanțelor pure [217] din compoziția calculilor reno-urinari.

Concluzia studiilor este că, la concrețiunile reno-urinare cu compoziție mixtă, cel mai frecvent întâlniți în practică, procesul de cristalizare este foarte complex, iar pentru elucidarea acestuia, este necesară aplicarea unor metode speciale de analiză dintre care un rol important îl deține difracția de raze X. Analizele de rutină deosebesc doar câteva faze întâlnite frecvent în compoziția calculilor reno-urinari. Evidențierea exactă prin metoda difracției de raze X permite efectuarea de corelații cu infecția urinară asociată frecvent urolitiazei.

Observație: În figurile prezentate liniile de difracție verticale de culoare **albastră** reprezintă liniile fazelor policristaline ale **etalonelor**, comparativ cu liniile de difracție ale **calculilor** studiați reprezentate cu **roșu**.

Ținând cont că toate componentele din compoziția calculilor sunt policristaline precum și de rezultatele obținute prin analiza termică și spectroscopia FT-IR privind compoziția calculilor, studiul de difracție de raze X a fost realizat în vederea identificării și verificării rezultatelor obținute prin celelalte două tehnici de analiză.

În figura II.66 se prezintă difractograma de raze X a calculului 1 (propus a fi de tip COM).

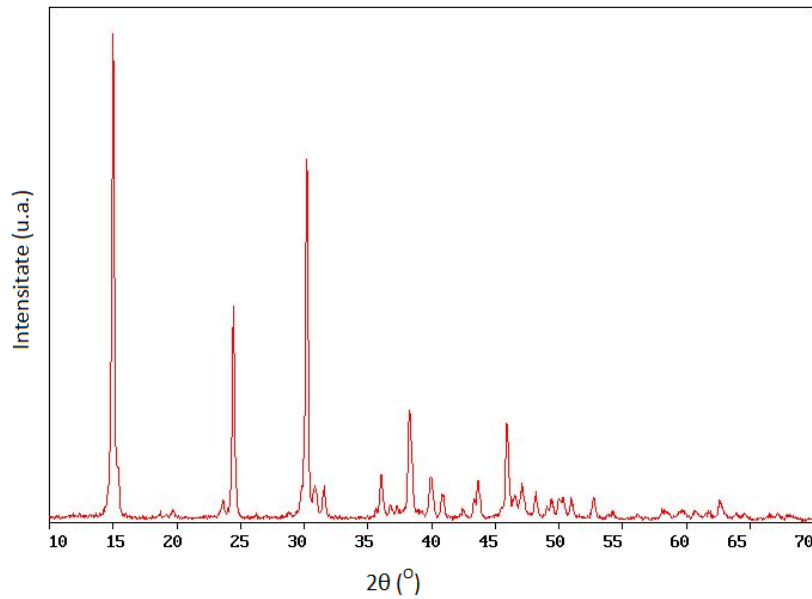
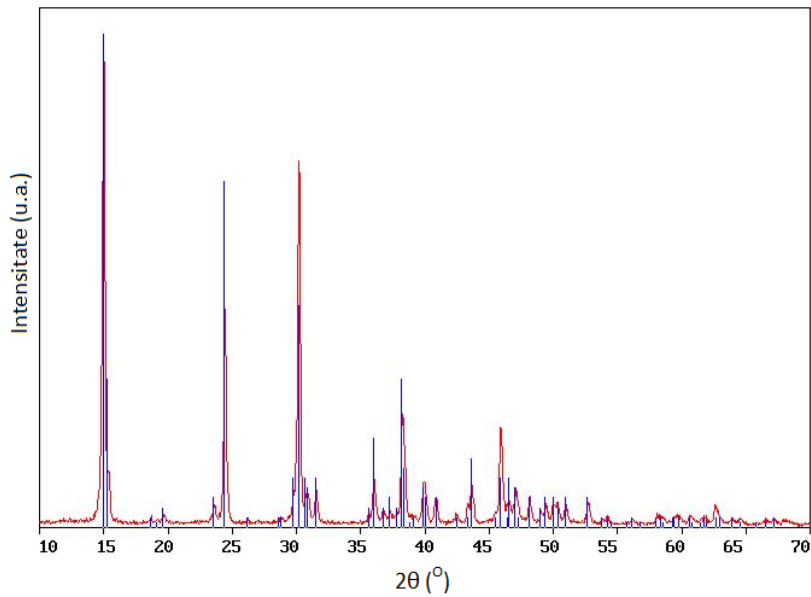


Fig. II.66. Difractograma RX a calculului 1

Fig. II.67. Difractogramele RX ale etalonului de $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ și calculului 1

Prin suprapunerea acestuia cu liniile de difracție ale compusului pur de tip oxalat de calciu monohidrat (Fig. II.67) se observă că benzile sunt perfect suprapuse, ceea ce confirmă că, calculul 1 este de tip $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Din

difractograma al acestui calcul se remarcă maxime ascuțite care reflectă cristalinitatea accentuată a probei.

În figurile II.68 și II.70 se prezintă difractogramele de raze X ale calculilor 2 și 3, care sunt similare cu cele ale calculului 1.

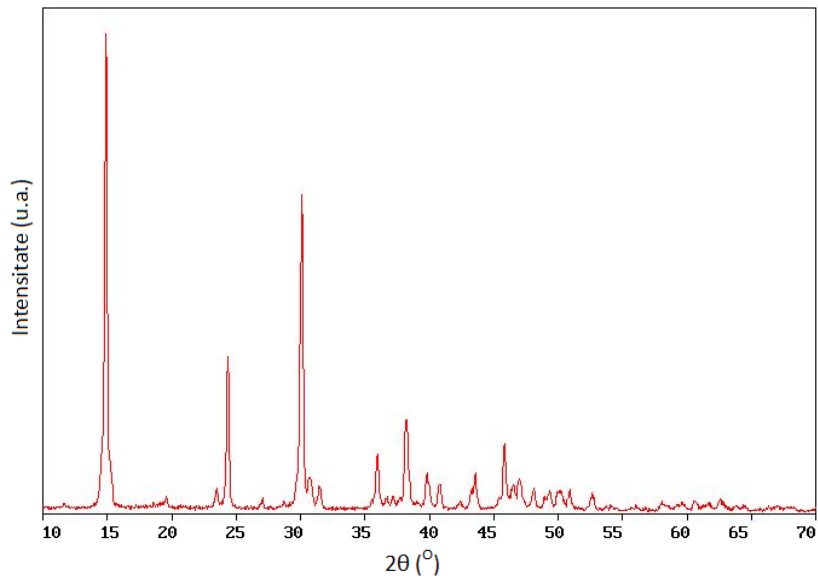


Fig. II.68. Difractograma RX a calculului 2

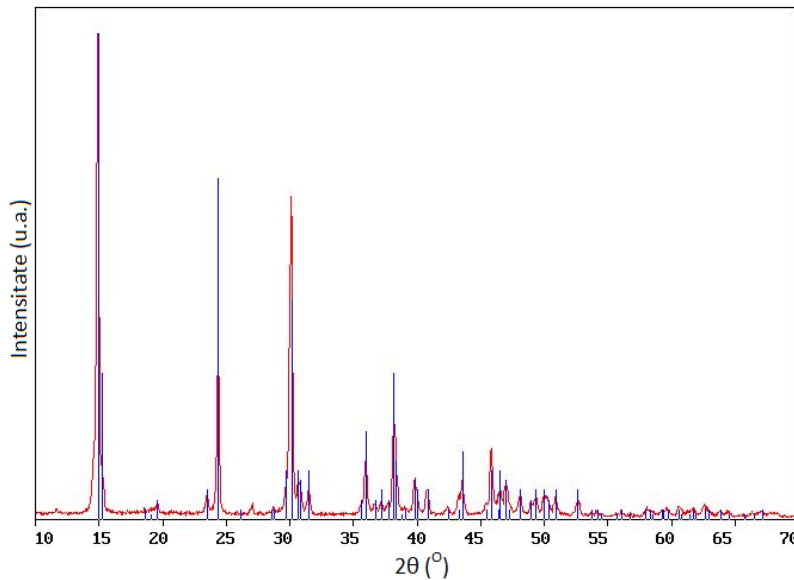


Fig. II.69. Difractogramele RX ale etalonului de CaC₂O₄·H₂O și calculului 2

Prin suprapunerea difractogramelor cu cele ale etalonului COM (Fig.II.69 și II.71) rezultă că și acești calculi contin numai oxalat de calciu monohidrat. Rezultatele obținute le confirmă pe cele din analiza termică și spectroscopia FT-IR.

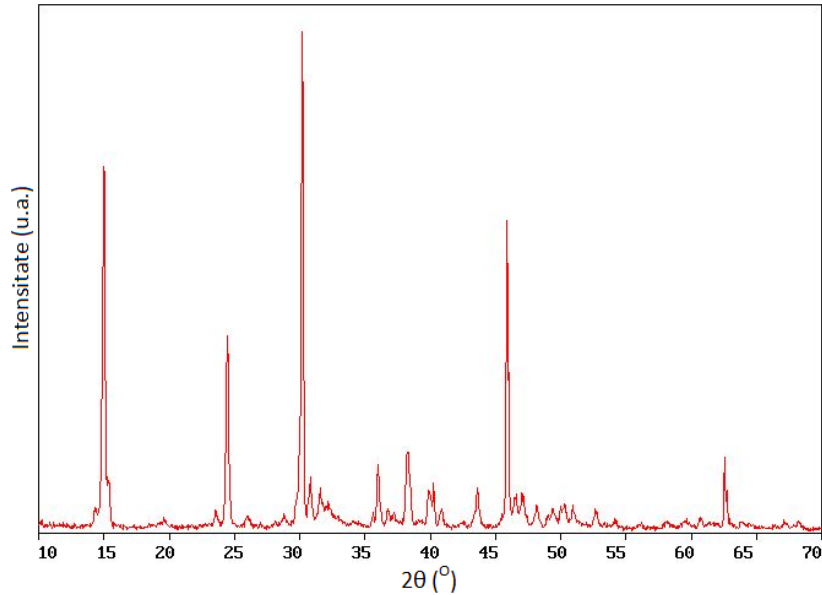


Fig. II.70. Difractograma RX a calculului 3

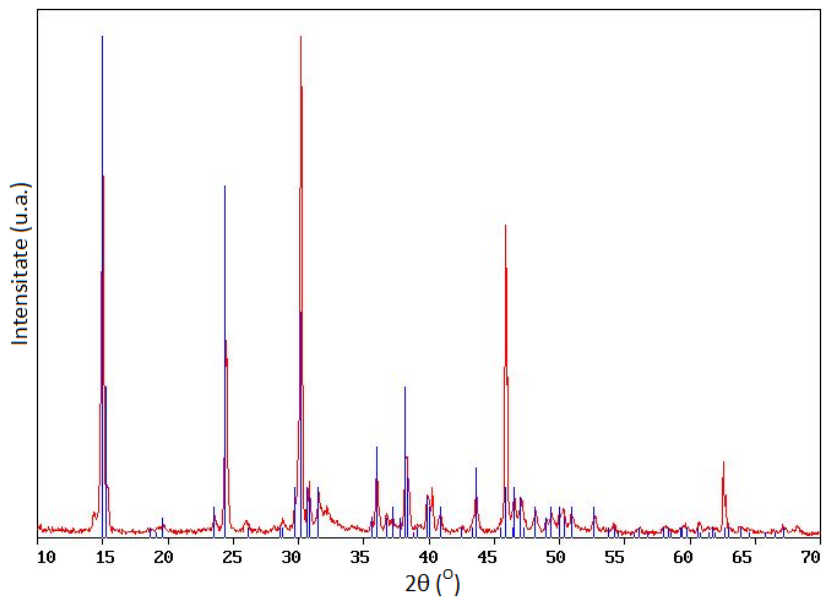


Fig. II.71. Difractogramele RX ale etalonului de CaC₂O₄·H₂O și calculului 3

Difractograma RX a calculului 6 (identificat prin analiza termică și spectroscopia FT-IR ca fiind un calcul ce conține oxalat de calciu dihidrat), este prezentată în figura II.72. Prin comparare cu difractograma RX a etalonului COD (Fig.II.73.), se constată că liniile de difracție de la aceleași unghiuri se suprapun foarte bine. Analiza RX confirmă perfect rezultatele obținute prin analiza termică și spectroscopia FT-IR, cum că, acest calcul conține ca fază unică $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

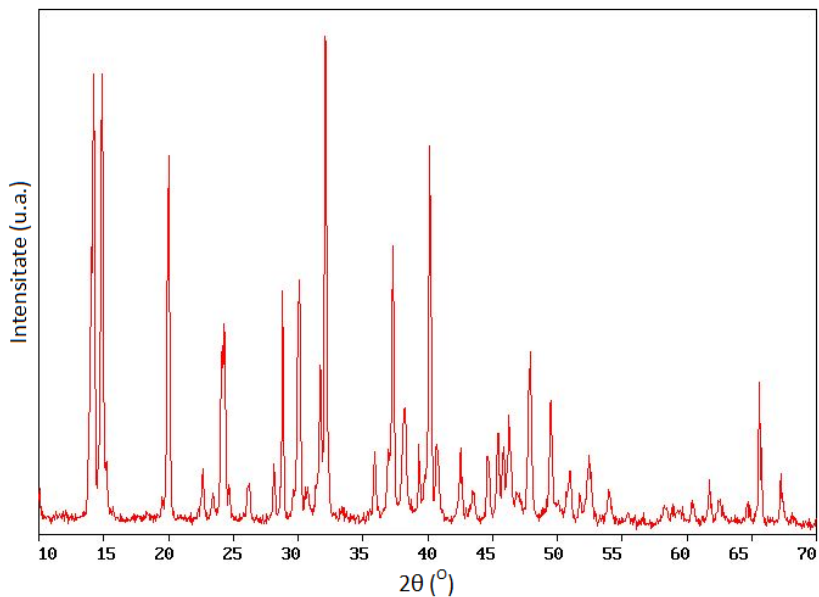
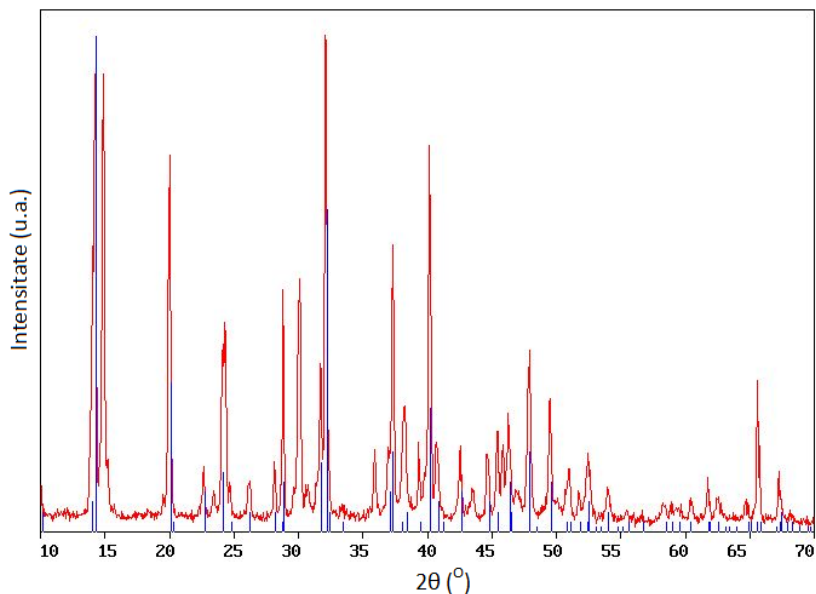


Fig. II.72. Difractograma RX a calculului 6

Fig. II.73. Difractogramele RX ale etalonului de $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ și calculului 6

În cazul calculului 7, unde prin analiza termică și FT-IR s-a pus în evidență alături de oxalatul de calciu dihidrat și prezența oxalatului de calciu monohidrat, prin analiza de difracție RX s-a confirmat compoziția mixtă a acestui calcul. În figura II.74 se prezintă difractograma calculului 7, iar în figura II.75 este redată difractograma calculului suprapusă cu liniile de difracție ale $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, respectiv în figura II.76 suprapusă cu liniile $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$.

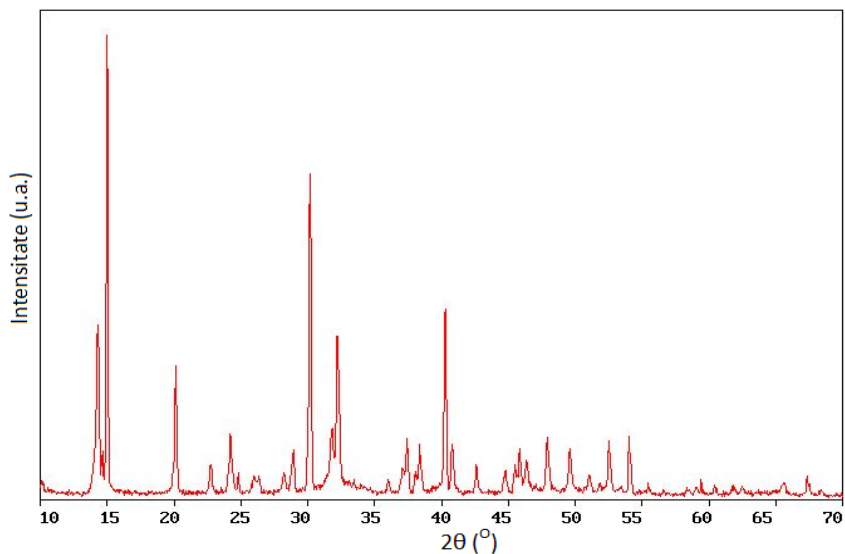


Fig. II.74. Difractograma RX a calculului 7

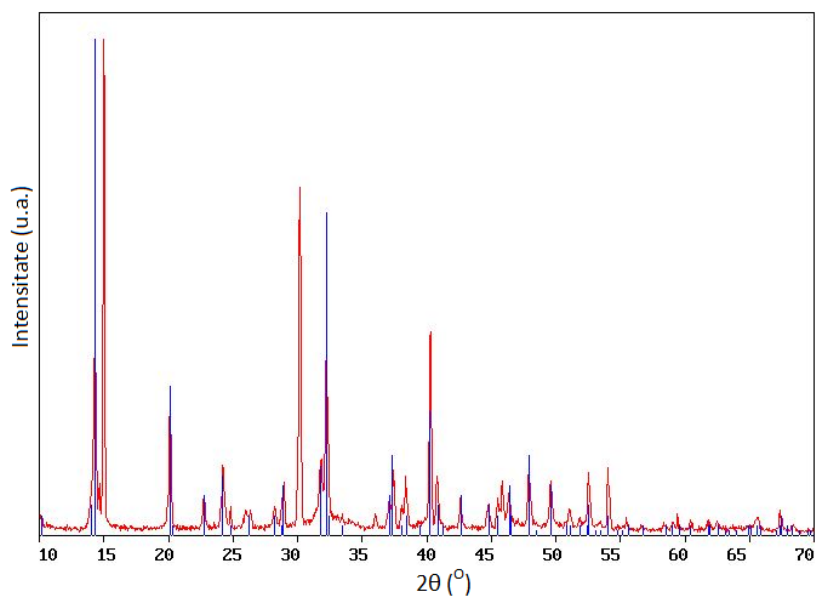
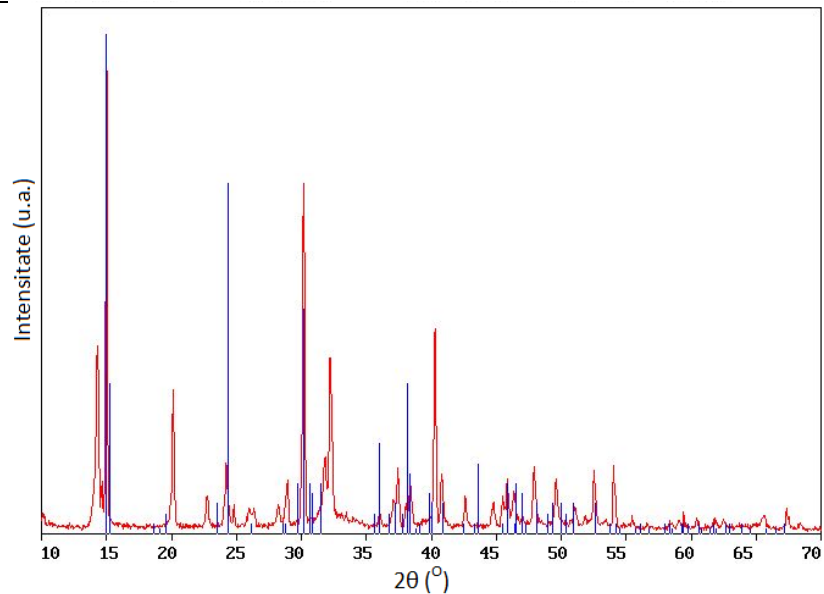


Fig. II.75. Difractogramele RX ale etalonului de $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ și calculului 7

Fig. II.76. Difractogramele RX ale etalonului $\text{Ca}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ și calculului 7

Se constată că există suprapuneri ale liniilor de difracție cu liniile ambelor etaloane confirmând că este un calcul mixt ce conține atât oxalat de calciu monohidrat cât și dihidrat. Pe difractograma acestui calcul se remarcă maxime ascuțite ce reflectă cristalinitatea accentuată a probei. $\text{Ca}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ prezintă maxime mai intense, ceea ce se poate spune că această fază este prezentă în concentrație mai mare în calcul.

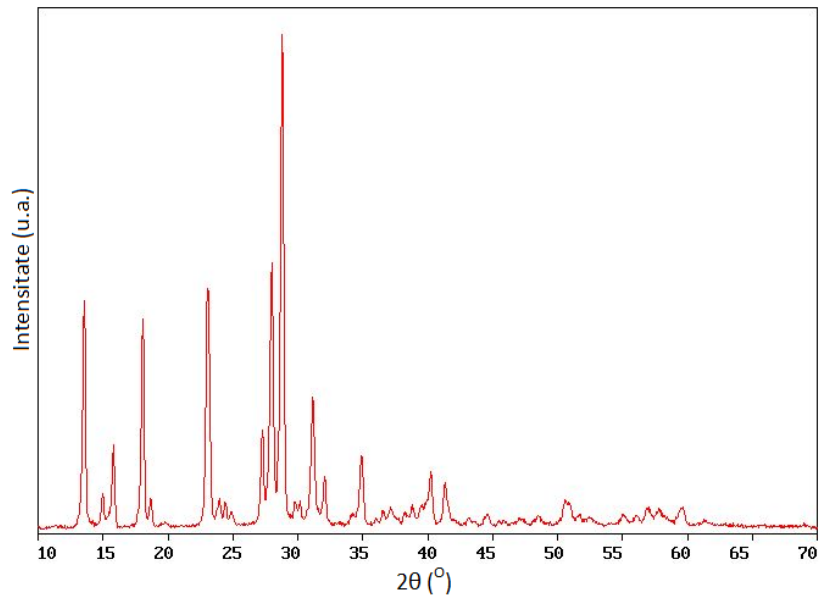


Fig. II.77. Difractograma RX a calculului 9

În cazul calculilor 9 și 10 din analiza termică s-a identificat și determinat că acești calculi sunt formați din acid uric pur.

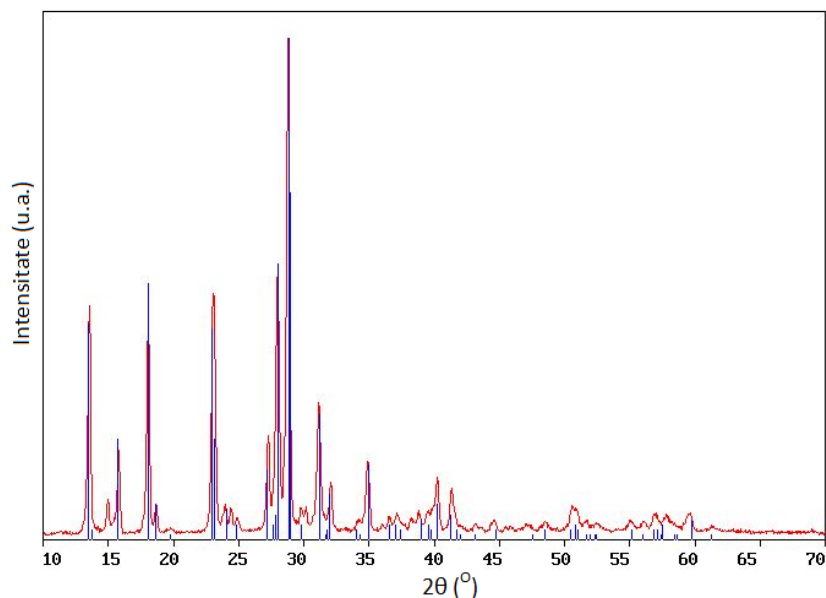


Fig. II.78. Difractogramele RX ale etalonului de acid uric și calculului 9

În figura II.77 se prezintă difractograma calculului 9, iar în figura II.78 este redată suprapunerea acesteia cu liniile de difracție caracteristice acidului uric pur (Anexa 3).

Difractograma acestui calcul arată că faza de acid uric se află în stare perfect cristalizată sub formă de maxime ascuțite.

În figura II.79 este redată difractograma calculului 11. Din analiza termică a rezultat că acest calcul este mixt, fiind identificați ambii componenți în amestec $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ și acid uric. Din analiza cantitativă a rezultat un conținut de 92 % oxalat de calciu monohidrat și 8 % acid uric. În figurile II.80 și II.81 sunt redată difractogramele calculului suprapuse cu liniile de difracție ale $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, respectiv cu cele ale acidului uric (Anexa 3).

Din analiza acestor spectre se poate concluziona, că în compoziția calculului 11 se găsește un amestec de oxalat de calciu monohidrat și acid uric.

Din intensitatea benzilor se poate trage concluzia că $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ se găsește în concentrație mult mai mare față de acidul uric, confirmând rezultatul analizei termice.

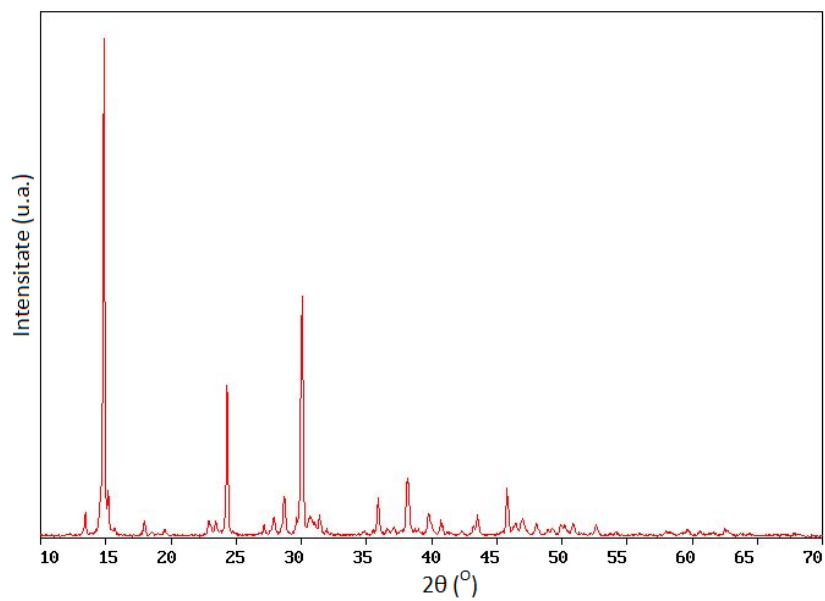


Fig. II.79. Difractograma RX a calculului 11

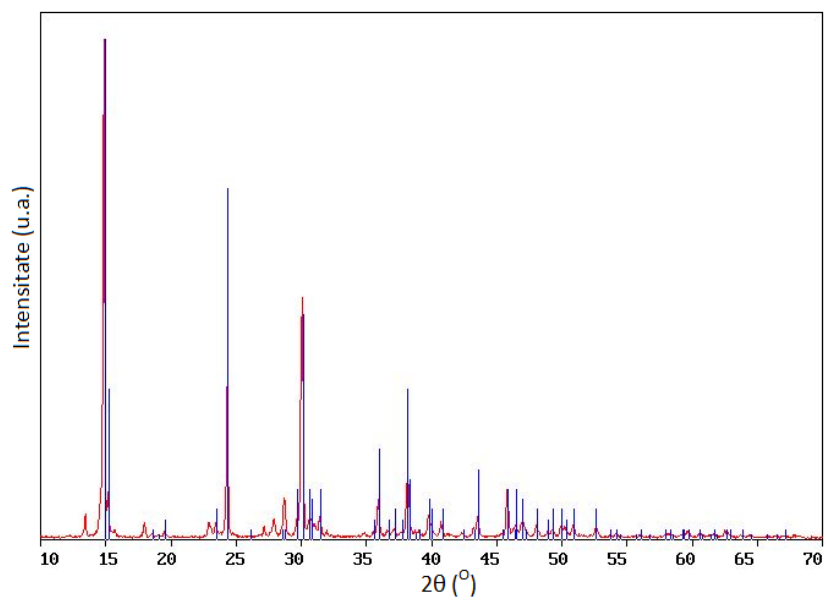


Fig. II.80. Difractogramele RX ale etalonului de CaC₂O₄·H₂O și calculului 11

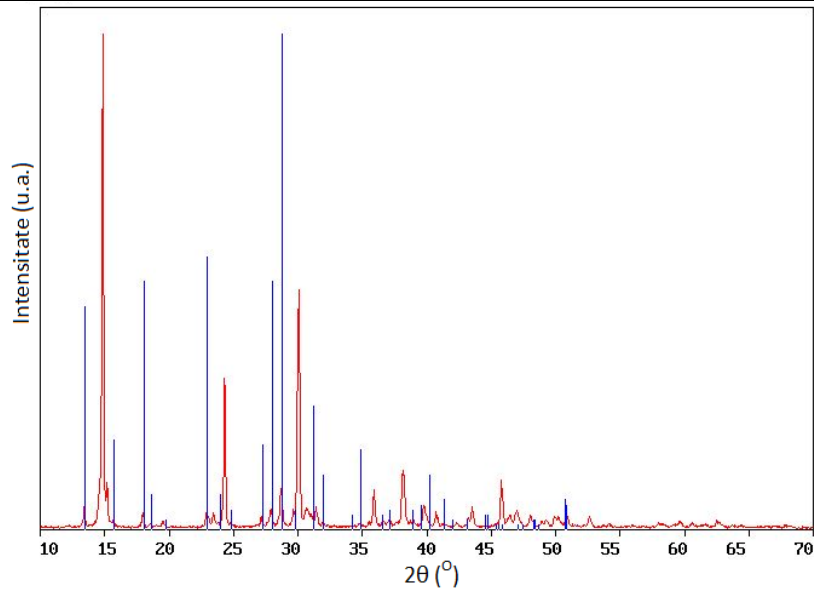


Fig. II.81. Difractogramele RX ale etalonului de acid uric și calculului 11

În figura II.82 se prezintă difractograma calculului 14 din grupa fosfatilor, care a fost identificat prin analiza termică ca fiind de tip struvit, astfel în figura II.83 se prezintă difractograma calculului suprapusă cu liniile corespunzătoare struvitului (Anexa 3). În urma identificării se concluzionează că acest calcul conține compusul $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

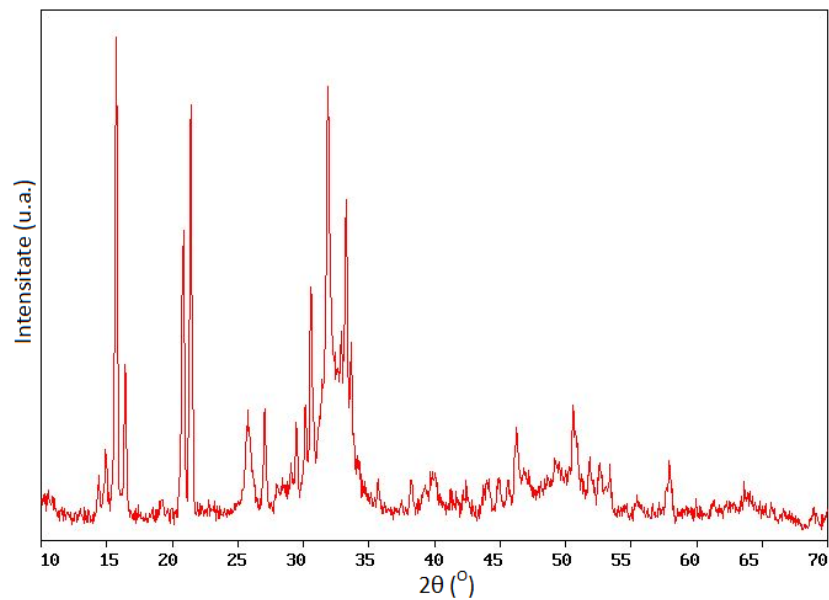


Fig. II.82. Difractograma RX a calculului 14

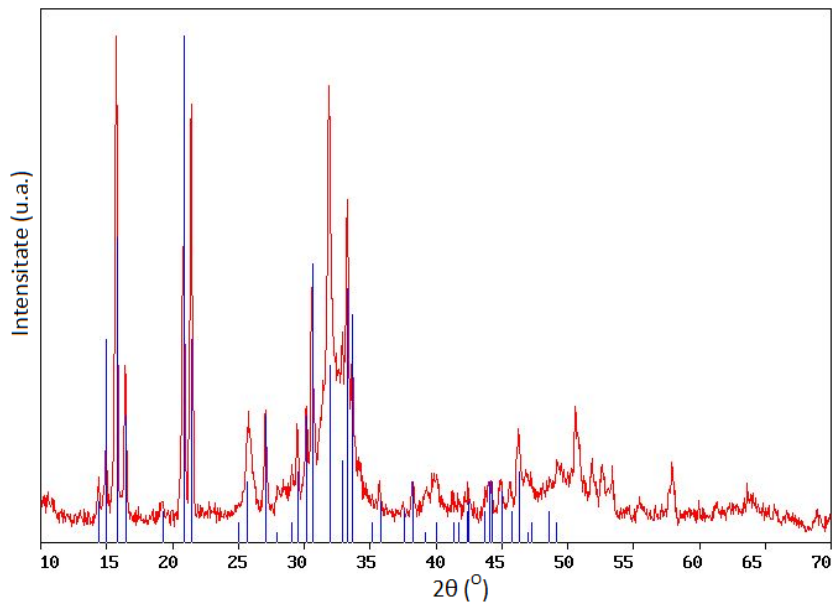


Fig. II.83. Difractogramele RX ale etalonului struvit și calculului 14

Din clasa calculilor de tip fosfați au fost identificați și calculii 17 și 18 ca fiind calculi micști care conțin și oxalat de calciu monohidrat determinat din analiza termică. Difractogramele acestor calculi sunt prezentate în figura II.84 (calculul 17) și în figura II.87 (calculul 18).

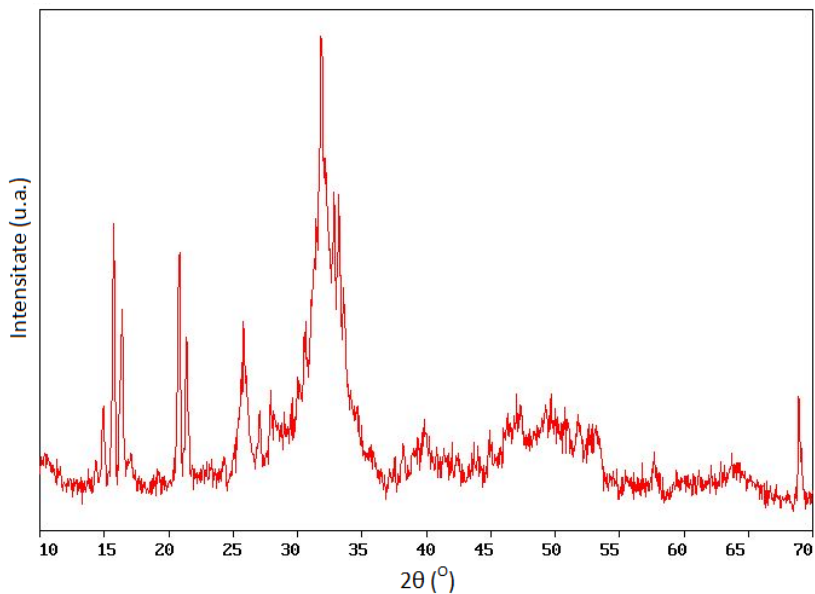


Fig. II.84. Difractograma RX a calculului 17

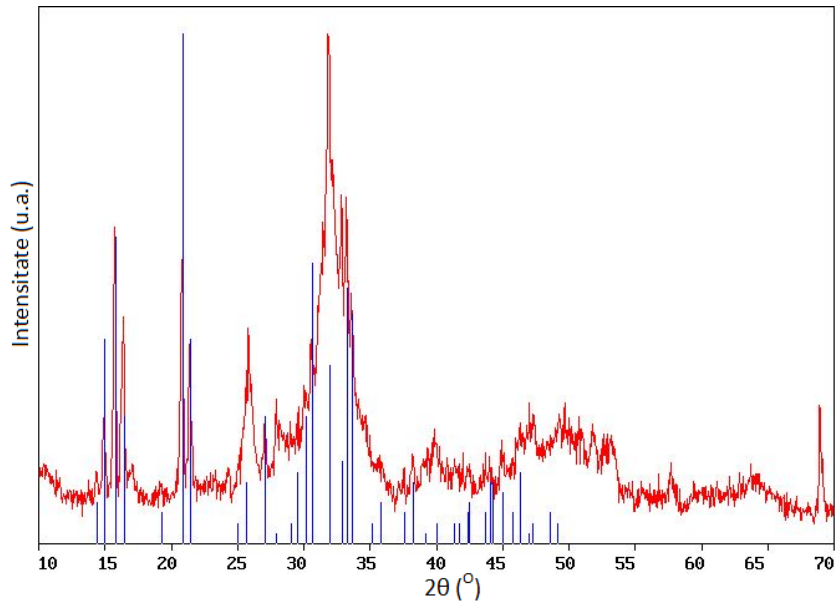
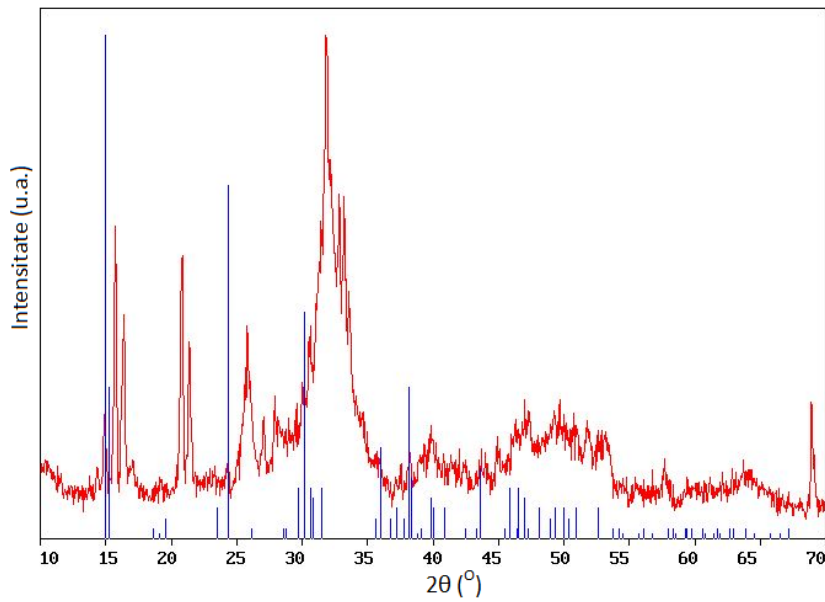


Fig. II.85. Difractogramele RX ale etalonului strivit și calculului 17

Fig. II.86. Difractogramele RX ale etalonului $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ și calculului 17

În figurile II.85 și II.86 se prezintă suprapunerea difractogramei calculului 17 cu cea a struvitului respectiv cu cea a oxalatului de calciu monohidrat. Din indexarea liniilor de difracție se constată că, în compoziția calculului se găsește atât $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (struvit), cât și $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$.

Concluziile obținute prin analiza termică asupra calculului 18, că este un calcul mixt de tip newberit și oxalat se confirmă prin interpretarea datelor analizei de difracție RX din figurile II.87-II.89.

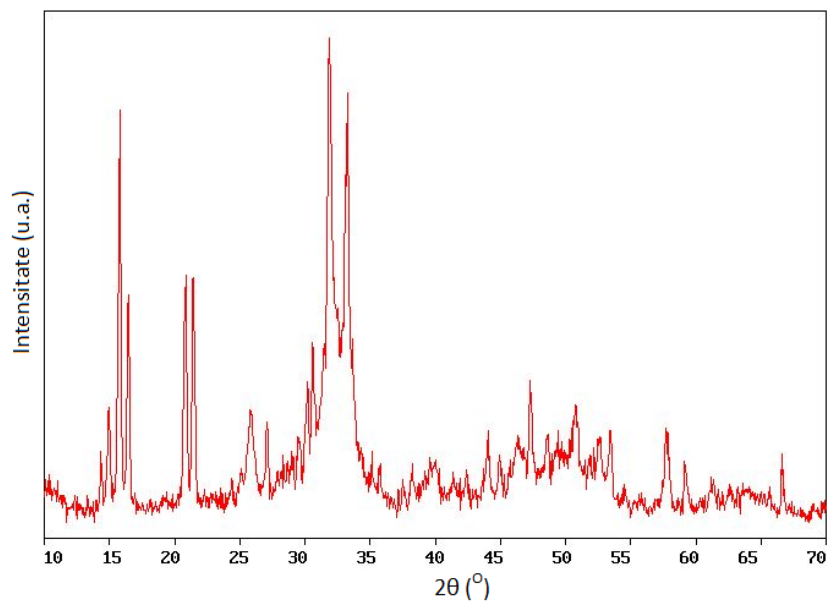


Fig. II.87. Difractograma RX a calculului 18

Din figura II.88 se identifică clar că acest calcul conține ca fază majoritară newberitul.

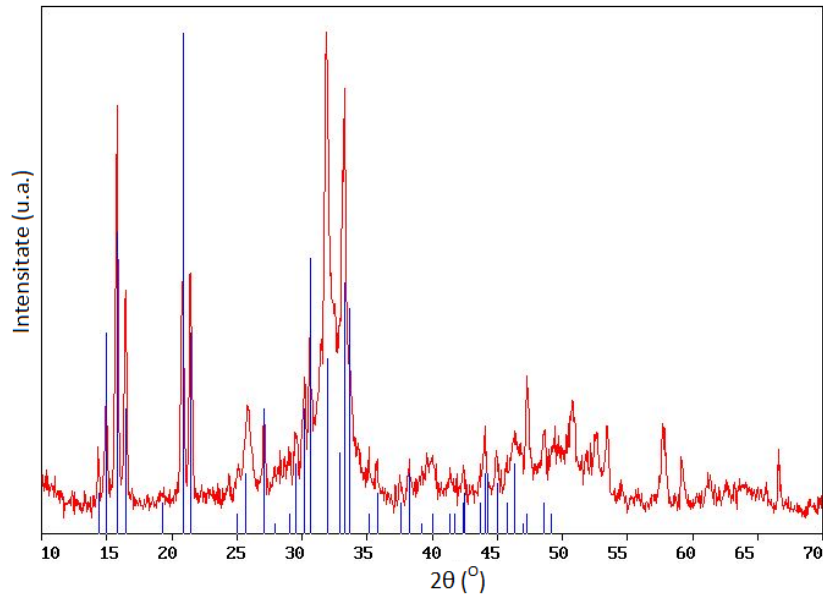
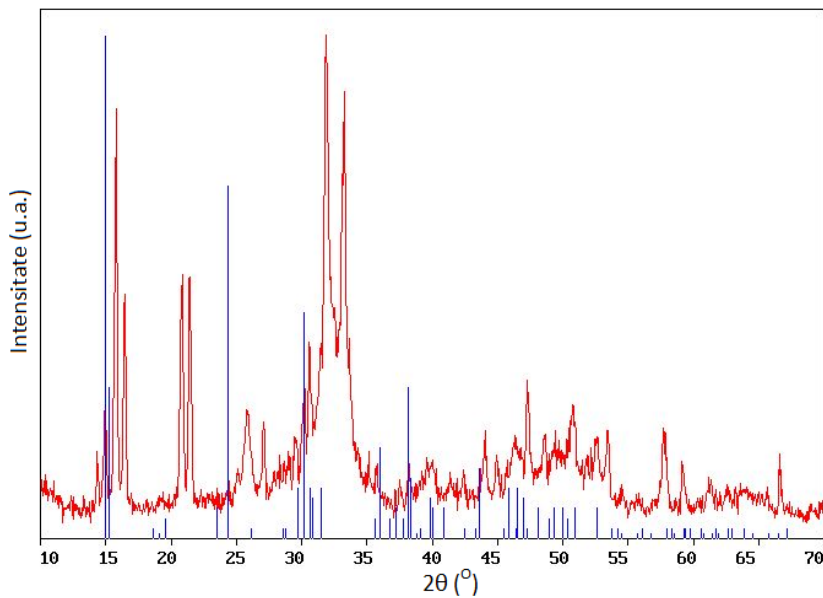


Fig. II.88. Difractogramele RX ale etalonului newberit și calculului 18

Prin indexarea difractogramei din figura II.89 se identifică și faza $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ în compoziția calculului.

Fig. II. 89. Difractogramele RX ale etalonului $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ și calculului 18

Concluzii

Difracția de raze X reprezintă o metodă cristalografică structurală, modernă și complexă importantă pentru cercetarea medicală. Utilizarea acestei metode la determinarea compoziției calculilor prezintă o serie de avantaje. Este o metodă analitică performantă, deoarece identifică constituenți cristalini, decelează distribuția fazală policristalină care intră în compoziția calculului.

Analiza de difracție de raze X a permis identificarea atât a calculilor simpli, cât și a celor micști prin compararea difractogramelor înregistrate cu date spectrale indexate în fișe ASTM.

În cazul calculilor micști de tip oxalați identificarea prin analiza RX a fost mult mai eficientă decât prin analiza termică (în cazul amestecului de oxalați) și spectroscopie FT-IR (în cazul calculilor de tip urat-oxalat), întrucât prezintă difractograme foarte diferite specifice fiecărui tip de cristalizare.

În cazul calculilor fosfatici identificarea este mai dificilă datorită difractogramelor complexe și a diversității naturii compusilor de tip fosfat.

Totuși, tehnica difracției de raze X necesită o aparatură costisitoare de înaltă performanță, aceasta făcând să fie limitată la aplicarea sa curentă în laboratoarele clinice ale spitalelor.

4.5. Microscopie electronica de baleaj (SEM)

Microscopia electronică de baleaj (SEM) este tehnica de microscopie utilizată în studiul materialelor, oferind informații legate de mărimea particulelor, de topografia suprafeței, compoziția chimică a suprafeței până la date calitative și cantitative asupra compoziției globale sau punctuale a probei [218, 219].

Imaginile SEM au fost realizate cu ajutorul unui microscop electronic, în vid înaintat (utilizat în cazul probelor semiconductoare și/sau metalizate), valoarea spotului 1,5 – 3, distanța de lucru pentru imagistică: 10 – 18 mm. Proba de analizat a fost mojarată, dispersată în alcool etilic și ultrasonată. Suspensiile obținute au fost depuse pe plăcuțe de sticlă. Pentru analiza materialelor prin SEM, după evaporarea alcoolului, pe plăcuțele cu probe a fost depus un strat de 100 nm de Ag.

În teză se prezintă imaginile SEM înregistrate la diferite rezoluții, pentru o serie de calculi selectați din calculii studiați, a căror compoziții au fost determinate prin metodele: analiză termică, spectroscopie FT-IR și difracție de raze X.

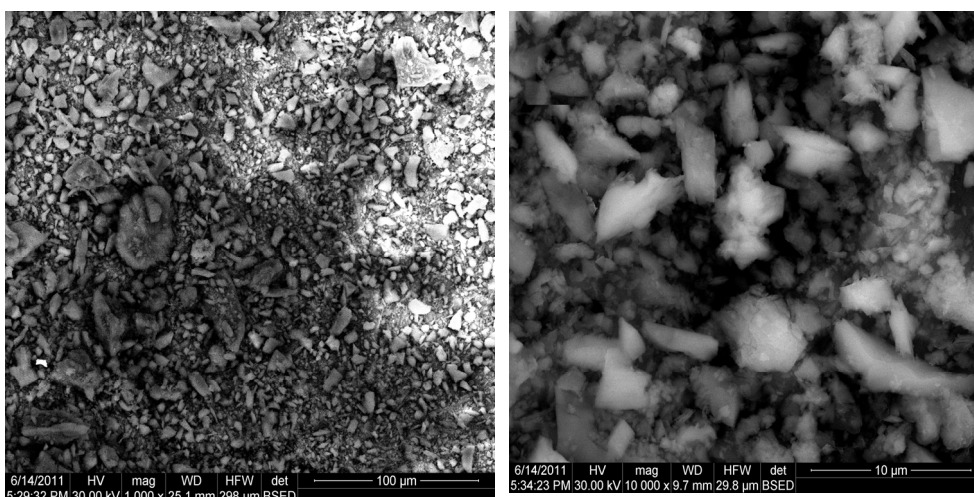
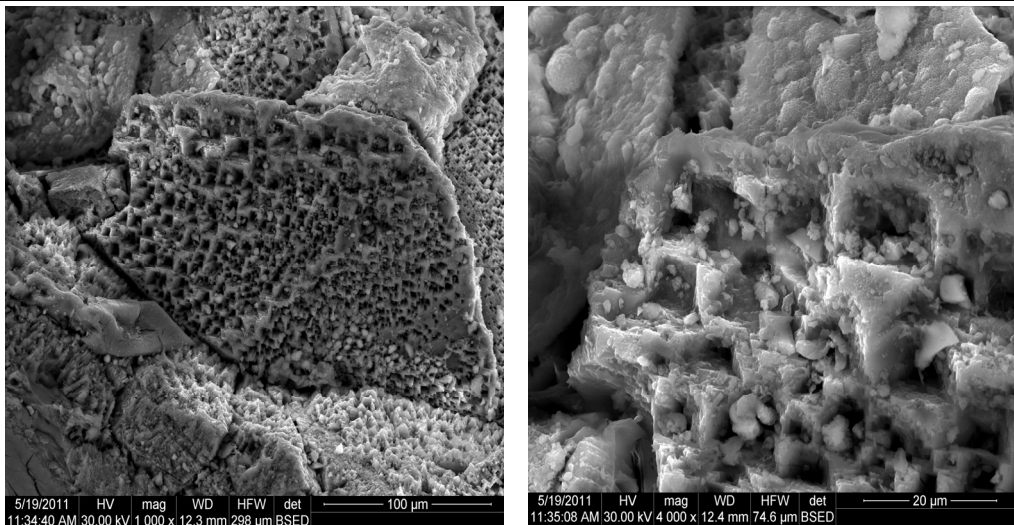


Fig. II.90. Imaginile SEM ale calculului 1 de tip $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$

În figurile II.90 și II.91 sunt redată imaginile SEM ale calculului 1, care conține oxalat de calciu monohidrat, respectiv ale calculului 5 care conține oxalat de calciu dihidrat. În cazul oxalatului de calciu monohidrat (calculul 1) se constată o aglomerare a particulelor sub forma unor texturi dense, intens cristaline, a căror disoluție se realizează cu mare dificultate.

Fig. II.91. Imaginile SEM ale calculului 5 de tip $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

În cazul calculului 5 se constată o cristalizare sub formă de piramide caracteristice oxalatului de calciu dihidrat, tetragonal, în forma clasică de plic. Frecvent acesta este asociat cu oxalatul monohidrat. Oxalatul dihidrat se dispune sub forma de insule cristaline într-o structură afanată [220, 221].

Așa cum analiza RX a evidențiat structuri cristaline complet diferite ale celor două tipuri de oxalat și imaginile SEM a celor doi calculi (1 și 5) sunt diferite.

În figurile II.92 și II.93 se prezintă imaginile SEM ale calculilor 9 cu conținut de acid uric, respectiv ale calculului mixt 10 cu conținut de acid uric și oxalat de calciu monohidrat.

Imaginile SEM ale calculului 9, ce conține numai acid uric prezintă o distribuție neregulată a particulelor de forme diferite. Din imaginile calculului mixt 10, se observă amprenta constituenților majoritari, oxalatul de calciu monohidrat [222].

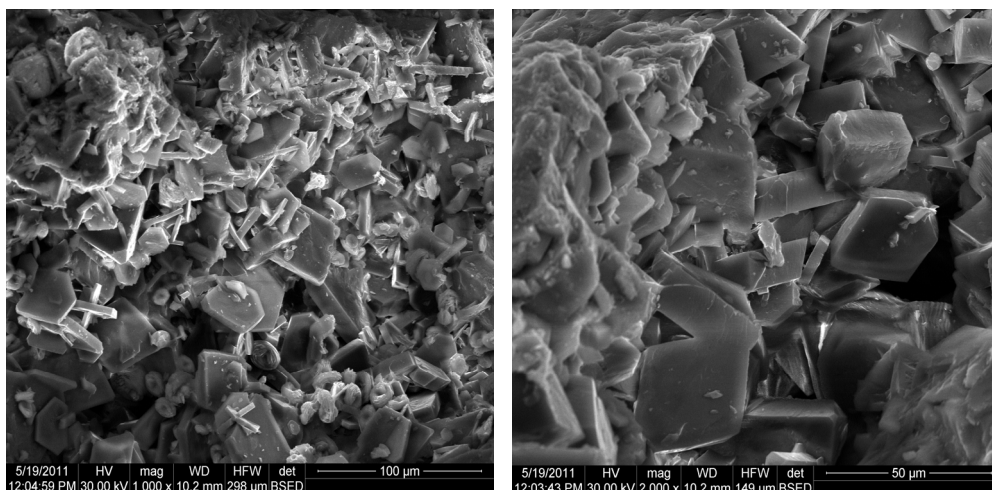


Fig. II.92. Imaginile SEM ale calculului 9 de tip acid uric

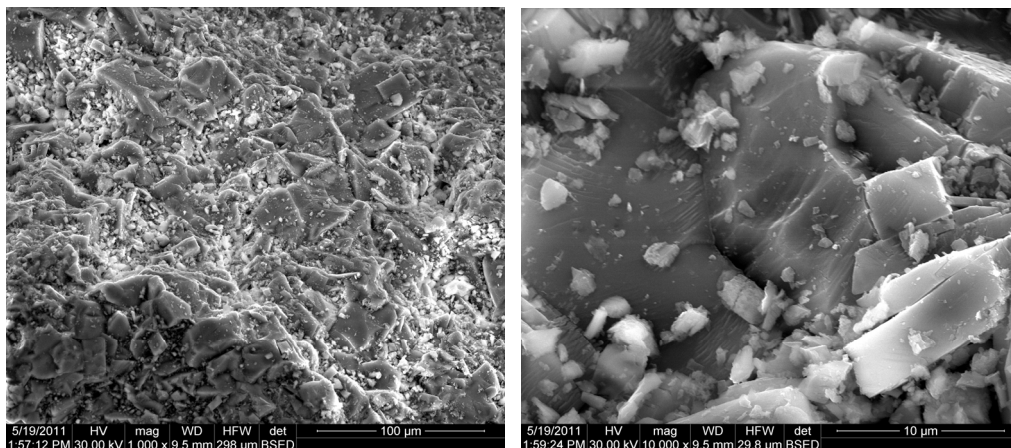


Fig. II.93. Imaginile SEM ale calculului 11 de tip acid uric-oxalat de calciu monohidrat

Prin compararea imaginilor SEM din figurile II.90, II.92 și II.93 se constată că, calculul 11 este un calcul mixt. Imaginile SEM ale calculului 15 (figura II.94), de tip struvit prezintă o textură amorfă, care practic se distribuie ca un gel în interiorul căruia se închistează colonii microbiene.

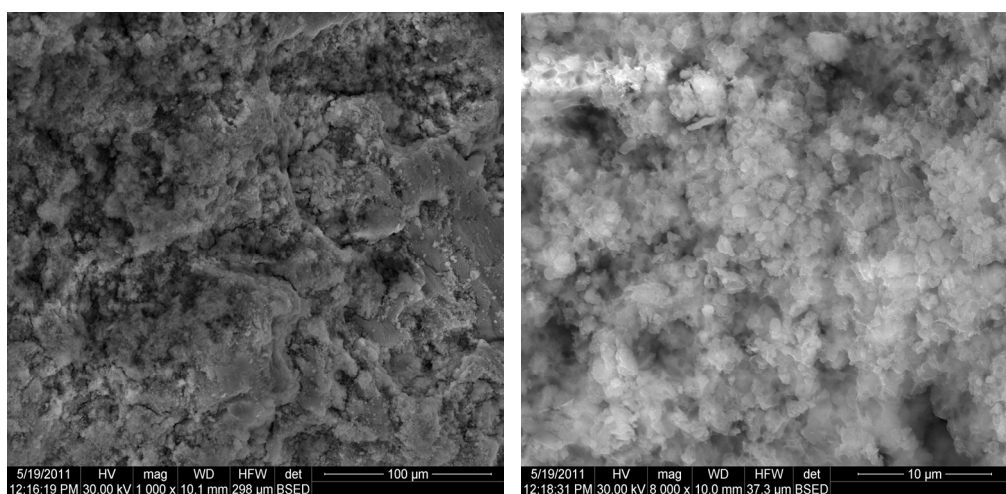


Fig. II.94. Imaginile SEM ale calculului 15 de tip fosfat

Concluzii

Din cercetarile efectuate se constata valoarea deosebita a microscopiei electronice ca metoda de studiu a calculilor reno-urinari, atat in aplicarea sa singulara, cat si in combinatie cu alte metode de analiza fazala.

Spre deosebire de celelalte metode de analiza (analiza termica, spectrometrie FT-IR, difractie de raze X) ce ofera numai date statice privind compozitia calculilor, microscopia electronica este singura care vizualizeaza in dinamica procesul litogenezei si etapele sale de disolutie.

Din imaginile de microscopie electronica SEM se remarca faptul ca acelasi compus cristalin din compozitia calculilor reno-urinari poate realiza tipuri diferite de textura, in combinatie cu alti constituinti.

4.6. Determinarea compoziției metalice a calculilor renali prin spectrometria de absorbție atomică

Spectrometria de absorbție atomică (SAA) este una dintre tehnicile cele mai utilizate pentru determinarea cantitativă a ionilor metalici în concentrații foarte mici (urme) indiferent de matricea în care se găsesc. Metoda se aplică pe scară largă în laboratoarele de toxicologie, criminologie, în laboratoarele medicale, în cazul probelor de natură biologică, geologică, produse alimentare, etc. [65, 224].

În cazul calculilor reno-urinari studiați s-au întâlnit principalele tipuri de ioni ai metalelor alcaline (Na, K), alcalino-pământoase (Ca, Mg) și urme de ioni ai metalelor (Zn, Fe, Cu, Mn, Pb). Cei mai întâlniți cationi care intră în alcătuirea calculilor sunt: calciu (Ca^{2+}), magneziu (Mg^{2+}), sodiu (Na^+), amoniu (NH_4^+). Dar s-au pus în evidență și ioni de (K^+), zinc, fier, cupru, aluminiu, mangan, crom, și chiar elemente cu potențial toxicogen cum ar fi cadmiu, plumb.

Au fost realizate cercetări ale calculilor reno-urinari pentru determinarea unor metale ce se găsesc în compoziția acestora.

Modul de lucru utilizat în cursul investigațiilor a urmărit respectarea unei succesiuni de operații. În fazele preliminare pulberea obținută din calculi prin procedeul cunoscut a fost adusă la greutate constantă prin tratament termic la 37 °C. După aceasta s-a procedat la pregătirea probelor analitice: cântărire, aducere în soluție (prin mineralizare cu HNO_3 și HCl în raport de 1:3), apoi probele s-au adus la sec, s-au dizolvat în soluție clorhidrică (HCl /apă în raport 1/1), s-au adus la baloane cotate și s-au efectuat determinările prin SAA. Din rezultatele obținute s-a determinat concentrația de metale, aceasta putând fi influențată uneori de tipul de flacără, de fenomene de interferență (chimică sau fizică).

Datele obținute au fost prelucrate statistic [65] cu metode computerizate, aplicând programul Excel. Valorile medii (\bar{X}) și deviațiile standard (SD) au fost determinate pentru concentrațiile metalelor din calculii oxalici simpli și micști. Calculele au fost efectuate pentru fiecare grupă de calculi prezentate în tabelele II.15 și II.16

În cadrul cazurilor cercetate s-au selectat 106 calculi simpli și micști cu conținut de oxalat dintre care 55 % provin de la femei, iar 45 % provin de la bărbați (Fig. II.95). În plus, urolitiaza oxalică simplă este întâlnită la 46 de cazuri (43,4%), iar cea mixtă la 60 de cazuri (56,6%).

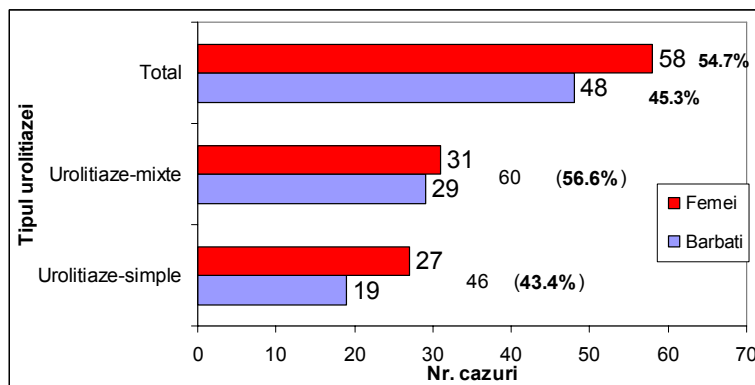


Fig.II.95. Repartiția uroconcrementelor în funcție de natura acestora (simpli sau micști)

În tabelul II.14 se prezintă tipurile de calculi în funcție de conținutul de oxalat (simplici și micști) și de proveniența acestora (femei sau bărbați). Se constată că cei mai mulți calculi sunt simpli de tip oxalati și cei mai puțini sunt calculii ternari de tip oxalat-urat-fosfat.

Tabel II.14. Tipuri de calculi cu conținut de oxalat

Tip calculi	Natura calculi		Nr. cazuri investigate		
			Total	Barbati	Femei
Simpli	Oxalat (O)		46	19	27
Micști	binari	Oxalat-Fosfat (O-P)	28	13	15
		Urat-Oxalat (U-O)	14	8	6
		Oxalat-Colesterol (O-Chol)	8	5	3
		Fosfat-Oxalat (P-O)	6	2	4
	ternari	Fosfat-Oxalat-Carbonat	-	-	-
		Oxalat-Urat-Fosfat (O-U-P)	4	1	3
Total calculi			106	48	58

În tabelul II.15 se prezintă rezultatele obținute la analiza metalelor (Zn, Fe, Cu, Mn, Pb) în calculii studiați.

Concentrația metalelor în calculi este diferită, depinzând de compoziția acestora. Variațiile sunt datorate de diferențele de solubilitate ale compușilor, de pH, molaritate, precum și de starea morfo-funcțională a rinichiului și tractului urinar. Concentrația metalelor în urme în calculii simpli de tip oxalat descrește astfel: Fe > Zn > Pb > Mn > Cu.

În cazul calculilor binari de tip oxalat (majoritar)- fosfat (O-P) și de tip fosfat (majoritar)- oxalat (P-O), Zn are concentrația cea mai mare, fiind urmat de Fe și Pb. Cuprul are cea mai scăzută concentrație în calculii de tip O- P, în timp ce Mn are concentrația cea mai scăzută în cei de tip P- O.

Tabel II.15. Concentrația principalelor metale la nivel de urme din calculi reno-urinari oxalici studiați

Tipul de calcul		Nr	Concentrația metalelor în diferitele tipuri de urolitiază ($\mu\text{g/g}$)				
			Zn	Fe	Cu	Mn	Pb
		N	X \pm SD	X \pm SD	X \pm SD	X \pm SD	X \pm SD
Simple	Oxalat	46	369 \pm 101	463 \pm 149	19 \pm 6	33 \pm 16	85 \pm 21
Mixt	Oxalat-Fosfat (O-P)	28	584 \pm 139	242 \pm 61	17 \pm 4	18 \pm 4	203 \pm 56
	Urat (Acid uric) -Oxalat (U-O)	14	164 \pm 51	237 \pm 70	21 \pm 9	16 \pm 5	69 \pm 19
	Oxalat-Colesterol (O-Chol)	8	51 \pm 10	45 \pm 17	18 \pm 5	8 \pm 3	58 \pm 17
	Fosfat-Oxalat (P-O)	6	413 \pm 127	257 \pm 89	18 \pm 4	12 \pm 3	188 \pm 69
	Oxalat-Urat-Fosfat (O-U-P)	4	217 \pm 88	159 \pm 79	20 \pm 5	13 \pm 4	138 \pm 42

Concentrația metalelor în urme relevă o descreștere în calculii oxalici în acord cu seria de mai jos:

Zn: O-P > P-O > O > O-U-P > U-O > O-Chol

Fe: O > P-O > O-P > U-O > O-U-P > O-Chol

Cu: U-O > O-U-P > O > P-O > O-Chol > O-P

Mn: O > O-P > U-O > O-U-P > P-O > O-Chol

Pb: O-P > P-O > O-U-P > O > U-O > O-Chol

Se poate observa că, conținutul de metale au cele mai scăzute concentrații în urolitiazele colestेरice cu excepția cuprului. Atât fierul cât și manganul au concentrațiile cele mai ridicate în urolitiazele oxalice. Din rezultatele obținute se constată că, concentrația cea mai mare de zinc și plumb se găsește la calculii de tip oxalat-fosfat, iar de cupru cea mai mare concentrație se află în cei de tip urat-oxalat (figura II. 96).

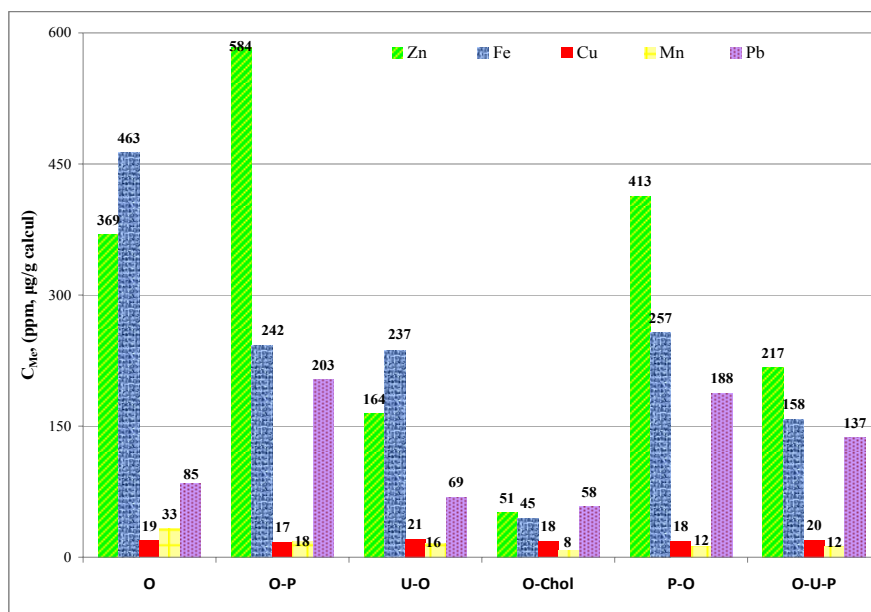


Fig. II.96. Distribuția metalelor în calculii reno-urinari analizați

Tabelul II.16 prezintă datele analitice obținute, care redau concentrația principalelor metale alcaline (Na, K) și alcalino-pământoase (Ca, Mg) pentru calculi simpli și micști.

Tabel II.16. Concentrația metalelor alcaline și alcalino-pamantoase din calculi reno-urinari oxalici studiați

Tip de calcul		Nr.	Concentrația metalelor în diferitele tipuri de urolitiază (mg/g)			
			Na	K	Ca	Mg
			X±SD	X±SD	X±SD	X±SD
Simplă	O	25	2,44±	0,76±	236,6±	1,60±
			0,79	0,22	26,17	0,51
Mixtă	O-P	13	0,44±	0,99±	182,36±	7,13±
			0,11	0,045	30,75	1,89
	U-O	9	1,81±	0,469±	206,70	0,408±
			0,62	0,1	± 73,48	0,14
	O-Chol	5	0,96±	0,57±	91,78±	0,305±0,0
			0,045	0,27	22,42	9

Din datele prezentate se constată că în cazul urolitiazelor oxalice simple există o descreștere a concentrației metalelor alcaline și alcalino-pamantoase în seria:

$$\text{Ca} > \text{Na} > \text{Mg} > \text{K}$$

În cazul calculilor micști oxalici, rezultatele obținute au relevat faptul că în toate tipurile de urolitiază concentrația calciului a fost cea mai crescută (fig. II. 97).

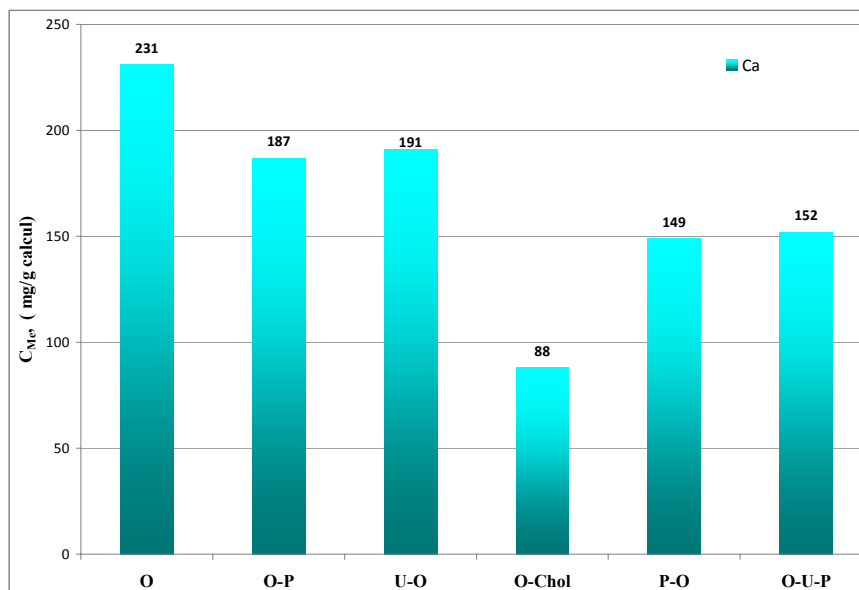


Fig. II.97. Distribuția calciului în calculii reno-urinari analizați

În figura II.98 se prezintă variația concentrației ionilor de Na, K și Mg în funcție de compoziția calculilor analizați.

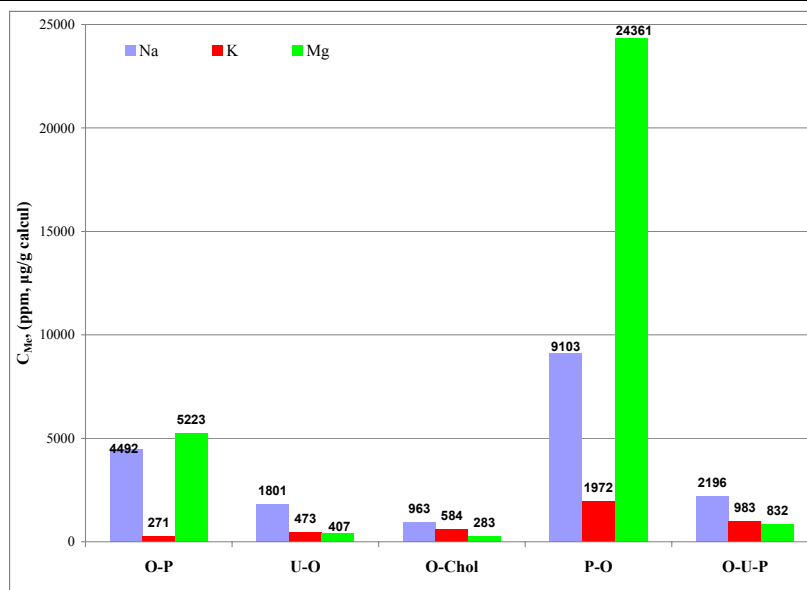


Fig. II.98. Distribuția Na, K și Mg în calculii reno-urinari analizați

Concentrația metalelor alcaline și alcalino-pământoase variază astfel:

O-P : Ca > Mg > K > Na

U- O: Ca > Na > K > Mg

O-Chol: Ca > Na > K > Mg

Se remarcă faptul că, concentrația magneziului este mai mare la calculii cu compoziție mixtă în care predomină fosfații și cea mai mică în urolitiazele mixte cu urați și colesterol. În ceea ce privește concentrația de sodiu trebuie menționat că aceasta are valoarea cea mai mică în cazul urolitiazelor mixte cu fosfați și valori situate imediat după cele ale calciului la cele ce contin urati sau colesterol alături de oxalat.

Valorile mai crescute ale deviațiilor standard (DS), observate din tabelele II.15 și II.16, sunt redată în domenii mari ale concentrației ionilor metalici din calculi. S-a folosit evaluarea statistica a sistemului computerizat, care a permis "rafinarea" datelor, prima valoare DS mentinută în sistem menționand formarea sistemului.

În concluzie în calculoză, rolul metalelor rămâne încă o chestiune deschisă. Interdependența, interacțiunea sinergică cu alți metaboliți organici sau anorganici, procesele de precipitare și coprecipitare întâlnite în urolitiaze relevă unele particularități ale mecanismului fizico-chimic în patogeniza acestora. Marea variație a concentrației metalelor de la un caz la altul și de la un tip de litiază la altul pledează pentru un mecanism complex (dependent de factori fiziologici, morfo-fiziologici, ecologici, ș.a.) în urolitogeneză.

4.7. Rețele neurale

O rețea neurală, din punct de vedere structural, este un ansamblu de unități funcționale simple interconectate. Orice rețea neurală este caracterizată prin: specificul unităților funcționale componente, arhitectura – modul de aranjare și interconectare a unităților funcționale, funcționare – procesul prin care rețeaua transformă semnalele de intrare (ex: datele de intrare ale problemei de rezolvat) în semnale de ieșire (răspunsul rețelei); învățare – procedul prin care rețeaua se adaptează la specificul problemei.

4.7.1. Abordări bazate pe rețele neurale

Analiza IR prin transformata Fourier este o metodă de încredere pentru aprecierea calitativă și cantitativă a compoziției calculilor urinari de la pacienți cu urolitiază. Totuși spectrele IR complexe ale calculilor urinari cu diferite combinații și proporții necesită interpretări experte. Scheme diferite au fost dezvoltate pentru analize calitative obiective ale spectrelor calculilor. Cuantificarea compoziției calculilor analizați pot fi realizate prin diferite metode: analiza factorială și regresia parțială a celor mai mici pătrate (PLS). Când se folosește legea Lambert-Beer, PLS este o metodă de bază pentru datele de analize spectroscopice ale calculilor urinari. Totuși, regresia PLS poate fi cauza unor neliniarități severe așa cum s-au observat din datele spectroscopice ale amestecului multi-component. Lipsa facilităților de manipulare online înaintea cuantificării datelor prin regresie PLS, restricționează folosirea acesteia în laboratoarele obișnuite.

Rețelele neurale artificiale (ANN- *artificial neural network*) [225] sunt mai puțin subiective la aceste limitări, sunt programe software simple, pentru care conceptul de muncă este parțial derivat din mecanismul de acțiune al creierului. Principala proprietate a rețelelor neurale artificiale este asocierea și învățarea prin exemplele cu structuri de date liniare sau neliniare; proprietatea lor este recunoașterea și predicția modelului (tiparului). Rețelele neurale au fost aplicate în evaluarea datelor din laboratoarele clinice [226]. Rețelele neurale sunt alcătuite dintr-un nivel de intrare, unul sau mai multe nivele ascunse și un nivel de ieșire (Fig. II.92). Fiecare nivel constă din unul sau mai multe elemente (neuroni) care sunt conectați la toate elementele din următorul nivel. Acești neuroni sunt dispozitive computaționale simple care primesc unul sau mai multe semnale de intrare. Dacă se dorește, cele mai multe programe de rețele neurale pot schimba topologia rețelei prin variația numărului de neuroni din toate sau câteva nivele.

Rețeaua este antrenată prin prezentarea ei cu un set suplimentar de probe de antrenare care conțin valorile de intrare și de ieșire actuale ale acesteia. Având o anumită topologie a rețelei, faza de învățare sau de antrenare dezvoltă modificarea puterilor de conectare între neuronii straturilor succesive. Aceste puteri au valori reprezentând influența stimulării sau inhibării unui semnal de intrare. Inițial factorii de masă (concentrație procentuală, împărțită la 100) sunt aleși la întâmplare. Adaptările maselor (concentrațiilor) în timpul antrenării au rolul de a reduce eroarea dintre ieșirea rețelei și cererea de ieșire.

Pentru obținerea reducerii erorilor, neuronii artificiali din nivelul ascuns și cel de ieșire calculează o sumă a tuturor acestor intrări; ieșirilor de masă (concentrațiile ieșite) le sunt aplicate o funcție de transfer diferențial care este o funcție mai mult sigmoidală decât liniară.

După inițializarea datelor de intrare, în timpul antrenării, acestea sunt expediate rețelei. Rezultatele tuturor calculelor la nivelul neuronilor de ieșire sunt comparate cu rezultatele cerute de ieșire. Dacă diferența dintre cerințe și rezultatele

calculate de ieșire este mai mare decât toleranța predefinită, concentrațiile (factorii de masă) sunt ajustați prin metoda back-propagation (propagarea inversă). După ce toate datele de antrenare au fost prezentate rețelei, într-o singură etapă, procesul (feed-forward, calcularea erorilor și back-propagation) este repetat până când utilizarea tuturor datelor de intrare produce ieșirile dorite prin toleranțele predefinite. Metodele constau în combinația dintre factorii de masă, care sunt folosiți pentru o calculare rapidă a rezultatelor de ieșire necunoscute. Înainte ca rețeaua să fie folosită pentru predicția probelor de compoziție necunoscută, performanțele rețelei ar trebui să fie validate prin analizarea unui grup separat de probe cu compoziții cunoscute care nu au fost folosite la antrenare.

Într-un fel rețelele neurale artificiale își extrag propriile modele din informații. Uneori spectrul IR al calculilor urinari compuși dintr-o serie de constituenți, conține date care se abat de la legea Lambert-Beer (ecuație liniară absorbție-concentrație), rețelele neurale artificiale sunt utile, în special pentru extragerea de informații cantitative din date cu structuri non-liniare.

Prin urmare, s-a evaluat utilizarea unei rețele neurale artificiale pentru a cuantifica **5 componenți** întâlniți de obicei în calculi urinari.

4.7.2. Aplicarea rețelelor neurale în cazul calculilor reno-urinari

A fost folosită o rețea neurală cu trei straturi feed-forward cu o funcție de transfer sigmoidală în stratul ascuns și o funcție de transfer liniară în stratul de ieșire. A fost căutată o arhitectură a rețelei cu cele mai bune performanțe prin modificarea numărului neuronilor de intrare (componente principale) și a numărului de neuroni ascunși. Numărul neuronilor de ieșire a fost fixat la 5, fiecare neuron de ieșire servește ca un indicator pentru un tip diferit de calcul. Rețeaua neurală folosită este cu 3 nivele: un nivel de intrare, un nivel ascuns și un nivel de ieșire. Numărul unităților (neuronilor) de intrare este 25. Valorile de intrare $X(i)$ reprezintă absorbțiile. Numărul unităților de ieșire este 5, iar valorile de ieșire $Y(i)$ reprezintă concentrațiile componentilor din probă (fracția masică a componentilor). Numărul neuronilor ascunși este variat de la 5 la 25 (Fig. II.99).

Rețeaua a fost antrenată pentru componenți puri și amestecuri de acid uric, carbonat apatita, struvit (fosfat de magneziu și amoniu hexahidrat), oxalat de calciu monohidrat (whewellite) și oxalat de calciu dihidrat (weddelite). Oxalatul de calciu monohidrat și carbonat apatita nu sunt disponibile în comerț, prin urmare s-a sintetizat weddewillite [227], iar carbonat apatita s-a obținut dintr-o serie de probe atent selectate de calculi urinari ale pacienților. Puritatea carbonat apatitei a fost examinată prin compararea spectrului IR cu spectrul din atlasul lui Hesse respectiv Dao [228, 229] cât și prin analize chimice standard.

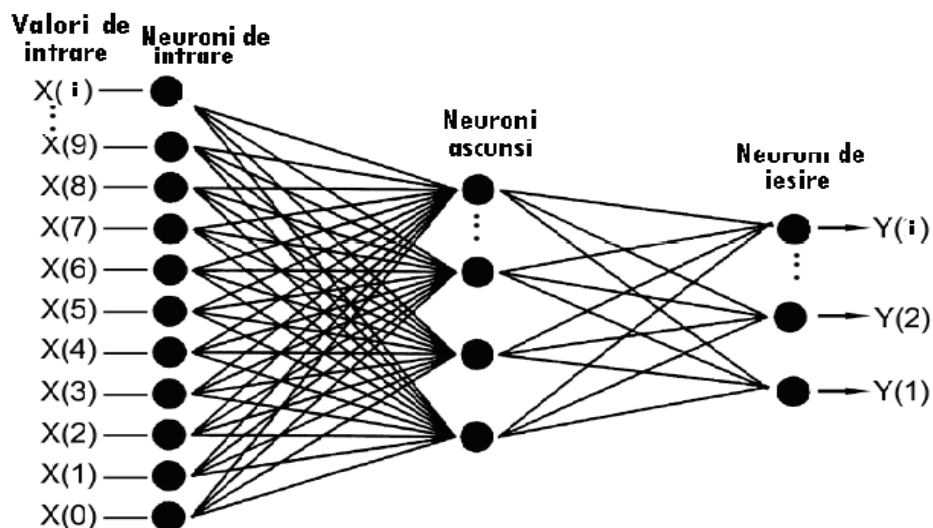


Fig. II.99. Schema unei rețele neuronale cu 3 nivele: un nivel de intrare, un nivel ascuns și un nivel de ieșire. Numărul unităților (neuronilor) de intrare este 25. Valorile de intrare $X(i)$ reprezintă absorbantele; Numărul unităților de ieșire este 5, iar valorile de ieșire $Y(i)$ reprezintă concentrațiile componentelor din probă (fracția masică a componentelor). Numărul neuronilor ascunși este variat de la 5 la 25.

Pentru antrenarea rețelei, s-a preparat 42 amestecuri: 25 binare și 17 ternare conținând 5 dintre cele mai frecvent întâlnite componente ale calculilor urinari. În cazul amestecurilor binare s-au realizat amestecuri de 1:3, 1:1, și 3:1 (25% , 75%), (50%, 50%), (75%, 25%). Pentru a testa calitatea rețelei neuronale în timpul antrenării am preparat un test independent compus din amestecuri (7) artificiale ale aceluiași componente ca și în setul de antrenare.

Experimente similare au fost realizate de Kuzmanovski și colaboratori [230] s-a evaluat utilizarea unei rețele neuronale artificiale pentru a cuantifica numai trei componente (whewellite, weddellite și carbonat apatite).

4.7.3 Topologia rețelei neuronale

Aplicatia software care simuleaza functionarea rețelei neuronale a fost scris în Turbo C (Borlan International). Setul de antrenare a fost folosit la obținerea unei rețele de procesare care are o topologie potrivită pentru analiza a cât mai multi componente dintre cei 5 în probele necunoscute. Numărul de unități al nivelului de intrare este egal cu cel al numerelor de undă selectate plus încă unu ($n = 25+1$). Au fost folosiți cinci neuroni de ieșire, câte unul pentru fiecare component folosit în setul de antrenare. Neuronii sigmoizi au fost folosiți pentru nivelele ascunse și neuronii liniari pentru nivelele de ieșire. Antrenarea rețelei s-a realizat pe 46 exemple. Nu au existat conexiuni directe între nivele de intrare și ieșire. Modele de intrare au fost eșalonate pe intervalul dintre 0 și 1 pentru datele de absorbție și între 0 și +1 pentru datele de concentrație.

Dacă există prea mult zgomot în tipare, este posibil ca modelul să depășească datele ca o consecință a comportamentului nonlinear al funcției de

transfer sigmoidal. În acest caz, rețeaua va stoca modelele individuale în locul trasăturilor fundamentale. Odată cu rețelele neurale depășite ca dimensiuni, antrenarea excesivă va conduce totodată la nepotrivirea (overfitting) cu datele de antrenare. Astfel, pentru optimizarea (minimizarea) numărului de nivele ascunse și al neuronilor acestora, s-a monitorizat rezultatul setului de teste independente.

Absorbanțele fiecărui număr de undă spectral au fost prezentate simultan unităților nivelului de intrare, câte un spectru o dată. În același timp, valorile corespunzătoare au fost prezentate neuronilor din nivelul de ieșire. După ce fiecare model de antrenare a fost prezentat în acest mod rețelei în etapa feed-forward, au fost calculate diferențele dintre rezultatul prevăzut și valorile reale de ieșire. Aceste diferențe au fost apoi utilizate pentru a actualiza masele (concentrațiile) din etapa de back-propagation a procesului de antrenare. Diferențele dintre rezultatul cerut și cel prezis au fost exprimate ca fiind exprimate ca erori medii pătratice pentru regulile back-propagation de învățare [231]. Întregul proces în cadrul căruia nivelele de antrenare sunt prezentate rețelei pentru actualizarea maselor, se numește epocă sau iterație. Rata de învățare pentru back-propagation e aleasă astfel încât să ofere cel mai scurt timp de antrenare, prevenind așadar orice oscilare.

4.7.4. Metode statistice și de validare

Un scop major al dezvoltării rețelelor neurale artificiale este o rețea de antrenare bine generalizată. Generalizarea este capacitatea rețelei neurale de a recunoaște modele necunoscute similare dar nu identice cu modelele de antrenare datelor de intrare. În prezent, literatura oferă multe modificări ale algoritmilor back-propagation pentru a intensifica capacitățile de generalizare ale rețelelor neurale [226, 232]. Setul de testare nu a fost expus procesului de antrenare în sine (ajustarea maselor), cât mai degrabă a fost folosit pentru a monitoriza performanțele de antrenare (din timpul antrenării). Rețeaua neurală are bune capacități de generalizare când RMSE descrește monoton cu numărul de iterații, atât pentru antrenare cât și pentru datele de antrenare cât și pentru datele de testare artificială. Alegerea topologiei finale de rețea se bazează pe monitorizarea performanței rețelei împreună cu modelele de testare din timpul antrenării. Numărul de iterații care produce valoarea minimă RMSE a datelor de testare artificială a este utilizat în predicția compoziției probelor necunoscute. Generalizarea proprietăților rețelelor neurale poate fi, de asemenea, validată prin metodele de scatter plots și linii de corelare bazate pe valori reale și prezise ale rețelei ale probelor de testare artificială.

După antrenarea finală, valoarea prezisă a rețelei va fi testată prin evaluarea comparativă a catorva probe de calculi, ale căror compoziții au fost estimate cu ajutorul cercetării bibliotecilor de date. Valoarea prezisă a rețelei va mai fi evaluată de asemenea și prin comparația vizuală a spectrelor probelor de calculi extrași de la pacienți cu spectrele unei probe artificiale care a fost preparată în conformitate cu compoziția prezisă de rețeau neurală a probelor pacienților.

4.7.5. Rezultate

În studiile lui Volmer și colaboratori [233], s-a găsit că intensitățile caracteristice benzilor de la $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ variază numai în funcție de compoziția specifică dar și în funcție de alți factori. În consecință, ei au folosit numai intervalul continuu al numerelor de undă de la $1936 - 400 \text{ cm}^{-1}$ care conține benzile cele mai

importante pentru componenții identificați. De asemenea, normalizarea a fost realizată pe același domeniu de numere de undă.

În cazul studiului pentru această teză s-a folosit numere de undă alese arbitrar aparținând unui domeniu de undă, mai larg, cuprins între 3420 și 460 cm^{-1} . Alegerea numerelor de undă s-a făcut astfel încât intensitatea absorbită să fie maximă pentru unul din componenți. Mai exact, s-au ales ca date de intrare absorbantele de la numerele de undă cu specificitate maximă anumitor grupări chimice din cei 5 constituenții aleși pentru datele de ieșire.

Corelația dintre compoziția prezisă de rețea și cea reală a probelor artificiale de testare folosite pentru monitorizarea performanței rețelei în timpul procesării este descrisă în Tabelul II.15. În acest tabel sunt prezentate erorile la antrenare odată cu schimbarea numărului de neuroani ascunși. Pentru a se găsi numărul de neuroni ascunși. Numărul de neuroni ai nivelului ascuns a fost redus. Odată ce a fost găsit numărul de neuroni ascunși se vor varia factorii de scalare pentru rata de intrare și ieșire și rata de învățare (într-un studiu ulterior). Reducerea rețelei la nivelul ascuns nu dă nici o pierdere a abilității de învățare. Selecția topologiei optime se va baza pe monitorizarea graficelor RMSE ca funcție a numărului de epoci (iterații) atât pentru datele de antrenare cât și cele de testare în timpul antrenării. Criteriul de selecție va fi: divergența minimă a ambelor curbe și cea mai joasă valoare a RMSE ale datelor de testare.

Tabel II.17. Corelația dintre compoziția prezisă de rețea

Concentrația reală a componenților	COM	COD	UA	MAP	CAP	Eroarea la antrenare
	0.1	0.9	0	0	0	
Nr. unități ascunse	Rezultate precise de rețea concentrațiile componenților (fracția masică)					
25	0.19	0.78	0.001	0.005	0.01	0.000137
20	0.13	0.83	0.0009	0.0004	0.02	0.001540
15	0.20	0.78	0.001	0.001	0.01	0.000200
10	0.48	0.38	0.001	0.001	0.12	0.008850
5	0.095	0.869	0.006	0.023	0.005	0.043204

Din tabelul II.17 se observă că topologia optimă de rețea obținută are 5 neuroni ascunși, respectiv 20, pentru scala de intrare între 1,0 și 0,0. Scala de ieșire și rată de învățare se vor stabili în studiile ulterioare.

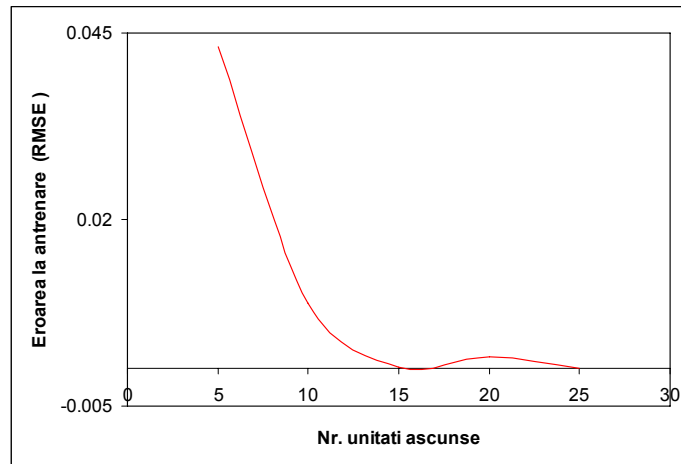


Fig. II.100. Variația erorii la antrenare în funcție de numărul de unități ascunse

Datele retrospective bazate pe analizele IR a compozițiilor calculilor urinari din laboratorul nostru au arătat că cca. 80% din calculii urinari conțin calciu. Marea majoritate a acestor calculi au fost amestecuri binare și ternare compuse din oxalat de calciu și /sau carbonat apatit

Cei cinci componenți din aceste probe au fost: carbonatapatita, struvit, acid uric, whewellite și weddellite. Tabelul II.17 arată corespondența dintre compoziția reală și compoziția prezisă de rețeaua neuronală pentru prima probă din setul de testare. În acest tabel a fost descrisă doar corespondența pentru prima probă, deoarece doar pentru aceasta estimarea a fost apropiată de datele reale. Explicația rezidă din faptul că pentru setul de antrenare al acestui tip de amestec au fost introduse mai multe date (amestecuri cu concentrații diferite). În cazul probelor 2, 3 și 4 din setul de testare, pentru antrenarea rețelei s-au folosit doar câte un amestec. În cazul probei 5 din setul de testare, amestecul conține un alt component (urant de amoniu) care nu este component al setului de antrenare (al nivelului de ieșire). Proba 5 din setul de testare, "potrivit eronată", a fost introdus pentru a testa robustețea modelului de rețea pentru compoziții care sunt în întregime sau parțial absente din setul de procesare. O nepotrivire serioasă a apărut pentru această probă.

În viitor trebuie să folosim un număr mai mare de date de intrare (absorbantele pentru un anumit domeniu al numerelor de undă). Deoarece, din date anterioare, s-a demonstrat că deplasarea numerelor de undă care nu contribuie la informații structurale au fost importante pentru rețelele de antrenare care au putut obține rezultate generalizabile pentru probe necunoscute după antrenarea rețelei neuronale. Criteriul pentru o topologie corectă este considerat a fi o performanță similară asupra procesării și a datelor de testare, de exemplu același ordin al RMSE și aceeași tendință, date de care s-a ținut cont în experimente viitoare. Dacă erorile rezultate urmează aceeași tendință se poate presupune cu siguranță că trăsăturile principale ale modelului sunt învățarea și nu numai trăsăturile specifice ale setului de procesare. Deci, va fi posibilă o predicție pentru modele noi.

Pentru probele pacienților, compoziția prezisă de rețea trebuie reținut că compoziția „reală” a probelor pacienților care va fi folosită pentru validarea rețelelor neuronale vor fi estimate de asemenea. Uratul de amoniu conținut de proba demonstrează că compozițiile calitative neînrudite a celor din setul de procesare pot avea drept rezultat deviații serioase de la compoziția reală pentru câțiva componenți sau toți componenții.

Se poate concluziona că predicția compozițiilor probelor necunoscute cu rețele neuronale artificiale ar trebui luate în considerație cu mare grijă când compozițiile sunt mult diferite de setul de procesare. Aparent, este necesară adăugarea unor reguli expert simple după completarea calculului rețelei neurale a probelor necunoscute.

Rezultatele din studiile noastre dar și din cele anterioare, arată că rețelele neuronale pot fi folosite pentru determinări de rutină ale compoziției cantitative a calculilor urinari. Totuși, antrenarea rețelelor neuronale artificiale este împiedicată de faptul că multe variabile trebuie să fie manual optimizate pentru obținerea rețelelor cu o bună generalizare. Timpul pentru o sesiune de procesare completă poate fi de asemenea considerabil. Sesiunile de procesare pentru rețelele (e.g. 15 000 epoci) au fost de 24 ore. Câteva sisteme de tip grup pentru operațiile nefrecvente prin care parametrii de procesare sunt schimbați automat după fiecare sesiune de procesare, este recomandată cu stăruință. Totuși, au fost obținute rețelele neuronale de încredere, predicția compoziției probelor necunoscute este dată în câteva secunde.

Majoritatea calculilor urinari nu conțin mai mult de 3 componenți. Dacă indentificarea componenților calculilor urinari este cunoscută dinainte rezultatele ușor mai bune pot fi obținute prin folosirea unei rețele care a fost antrenată numai cu componenții de interes. Totuși pentru analiza calculilor urinari, câștiguri în obținerea acurateței au fost obținute prin folosirea unor rețele, astfel că antrenarea de rețea cu 5 componente este neglijabilă (date neprezentate).

Noi am folosit un algoritm simplu de antrenare al rețelelor neuronale. Trebuie revăzut, ajustat și îmbunătățit. De asemenea, potrivit datelor din literatură, pentru selecția topologiei optime va trebui să se bazeze pe monitorizarea graficelor RMSE ca funcție a numărului de epoci atât pentru datele de antrenare cât și cele de testare în timpul antrenării. Criteriul de selecție va fi: divergența minimă a ambelor curbe și cea mai joasă valoare a RMSE ale datelor de testare.

În concluzie, predicția compoziției cantitative a calculilor urinari prin rețele neuronale artificiale este de uz practic în laboratoarele chimice. Alte metode de calibrare multivariată (ex. PLS) pot fi aplicate cu succes dar acestea cer pași diferiți de procesare a datelor. Prin urmare, aceste metode de calibrare multivariate sunt în special utilizabile numai în programele comerciale cu posibilități de procesare limitată sau fără posibilități de procesare. În prezent noi suntem angajați în pregătirea softului care va fi disponibil într-un program de preprocesare a datelor, și câteva reguli expert simple pentru predicția compoziția calculilor urinari analizați cu

Concluzii generale

Studiul prezentat în teză a urmărit obținerea unor rezultate cât mai complete, de precizie și acuratețe ridicată privind compoziția și structura calculilor reno-urinari prin trei metode instrumentale (analiza termică, spectroscopia FT-IR și difracția de raze X) selectate ca fiind cele mai performante pentru acest tip de analiză.

Cele trei metode au fost și sunt utilizate la acest tip de analize într-o serie de studii, însă rezultatele raportate nu pun în valoare posibilitățile maxime pe care le oferă aceste tehnici și din care se pot obține informații mult mai complete, mai ales în cazul în care sunt asociate în funcție de natura și complexitatea calculului.

Studiul nu a urmărit analiza compoziției calculilor în funcție de anumiți factori statistici (alimentație, proveniență, vârstă, climă, moștenire genetică) sau de un ansamblu de cazuri de boală de un anumit profil.

Principalele rezultate

- s-au clasificat un număr de 84 calculi în grupe (tipuri de calculi) pe baza analizei morfologice (aspect, culoare, dimensiune, microscopie optică) în calculi simpli și micști de natură oxalică, urați, fosfați;

- în urma analizei chimice pe cale uscată și umedă a fost selectat un număr de 18 calculi (presupuși a fi de compoziții cât mai diferite), care au fost supuși analizelor ulterioare;

- s-a efectuat analiza termică pentru cei 18 calculi, înregistrându-se curbele termice TG și DTG în atmosferă de azot;

- prin compararea curbelor termice cu cele ale etaloanelor, s-au identificat 8 calculi de tip oxalat, 2 calculi de tip acid uric, 3 calculi de tip fosfat și 5 calculi micști.

- din forma curbelor termice și din calcule stoechiometrice s-a stabilit compoziția calculilor 1÷4 ca fiind calculi de tip oxalat de calciu monohidrat, iar calculii 5÷8 ca fiind de tip oxalat de calciu dihidrat sau amestec de oxalați;

- s-a introdus pentru prima dată utilizarea unui algoritm $r_1 = \text{CO}/\text{CO}_2$ și $r_2 = \text{H}_2\text{O}/\text{CO}_2$ prin care se poate stabili dacă în compoziția calculului se găsesc substanțe organice ($r_1 > 0,636$), respectiv dacă calculul conține un amestec de oxalați ($0,41 < r_2 < 0,82$);

- din masa reziduală s-a determinat puritatea calculului respectiv prezența unor materiale inerte;

- din pierderea de CO_2 se poate determina cu exactitate cantitatea de $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ în calculii simpli sau micști de tip oxalat-urat sau oxalat-fosfat;

- prin analiza termica s-a identificat amestecul de ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ + $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), dar nu s-a putut determina cu precizie raportul in care cele doua componente se gasesc in amestec;
- punerea în evidență a compoziției calculului mixt oxalat-urat s-a realizat într-un mod original prin prepararea unui amestec acid uric-oxalat de calciu monohidrat;
- s-a efectuat un studiu cinetic pentru oxalatul de calciu monohidrat etalon comparativ cu calculul 1 de tip $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, respectiv cu un calcul 5 de tip $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ cu privire la stabilitatea termică și structura acestora;
- s-au stabilit modelele cinetice privind mecanismul procesului de deshidratare rezultând că mecanismul pentru calculul 5 ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 1,8\text{H}_2\text{O}$) este diferit de cel al $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ pur (etalon) și calculului 1 ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 1,1\text{H}_2\text{O}$);
- dependența energiei de activare de gradul de conversie a arătat că procesele de deshidratare a probelor investigate sunt complexe, constând din reacții consecutive, paralele și/sau reversibile. Valorile parametrilor cinetici ai procesului de deshidratare sunt specifice fiecărei probe investigate;

Analiza termică este cea mai bună metodă de investigare a compoziției calculilor micști permițând diferențierea neambiguă a componentelor (identificare, dozare).

- rezultatele obținute prin spectroscopia FT-IR a celor 18 calculi investigați au arătat că în cazul calculilor simpli, componenții pot fi identificați cu o buna precizie iar în cazul calculilor micști identificarea este mult mai dificilă datorită suprapunerii unor benzi caracteristice;
- s-a utilizat pentru prima dată derivata a doua a spectrelor de absorbție în infraroșu, la identificarea componentelor din calculii micști de tip COM+AU, respectiv COM+CAP;
- utilizarea derivatei a doua a spectrelor de absorbție FT-IR pentru calculii micști de tip oxalați a condus la identificarea unui amestec de COM și COD.

Metoda spectroscopică FT-IR este o metodă mai rapidă decât analiza termică, la identificarea componentelor, dar este mai dificil de utilizat în analiza cantitativă.

- spectrele de difracție a celor 18 calculi au arătat că în compoziția lor se găsesc compuși bine cristalizați;
- identificarea compușilor cristalizați în calculii simpli și micști a confirmat cu exactitate rezultatele obținute prin analiză termică și spectroscopie FT-IR;
- analiza de difracție de raze X a permis identificarea atât a calculilor simpli, cât și a celor micști prin compararea spectrelor înregistrate cu date spectrale indexate în fișe ASTM;
- identificarea prin analiza RX a calculilor micști de tip oxalați a fost mai eficientă decât prin analiza termică (în cazul amestecului de oxalați) și spectroscopie FT-IR (în cazul calculilor de tip urat-oxalat), întrucât prezintă spectre de difracție foarte diferite specifice fiecărui tip de cristalizare;
- în cazul calculilor fosfatici identificarea este mai dificilă datorită spectrelor de difracție complexe și a diversității naturii compușilor de tip fosfat;

Tehnica difracției de raze X identifică cu precizie constituenții cristalini ai calculilor, dar detectează cu dificultate constituenții minori sau amorfii din compoziția calculilor micști.

Exploatarea acestor metode la performanțele pe care le oferă și corelarea rezultatelor obținute prin cele trei metode, pot conduce la informații precise și de acuratețe ridicată pentru diagnoza urolitiei.

- prin microscopie electronică de baleiaj (SEM) s-a reflectat distribuția componentelor majore din compoziția calculilor reno-urinari; din imaginile SEM se
 - remarcă faptul că același compus cristalin din compoziția calculilor poate realiza tipuri diferite de textură, în combinație cu alți constituienți.
 - prin spectrometria de absorbție atomică s-a determinat conținutul metalelor în urme din compoziția a 106 calculi simpli și micști de natură oxalică;
 - marea variație a concentrației metalelor de la un caz la altul și de la un tip de litiază la altul pledează pentru un mecanism complex dependent de factori fiziologici, morfo-fiziologici, ecologici în urolitogeneză.
 - rolul metalelor în procesul de nucleere în formarea calculilor rămâne încă o chestiune deschisă;
 - pentru prima dată s-a utilizat un studiu de implementare a rețelelor neurale artificiale privind predicția compoziției calculilor reno-urinari.
 - s-a evaluat utilizarea unei rețele neurale artificiale pentru a cuantifica 5 componenți întâlniți de obicei în calculi urinari (acid uric, carbonat apatita, struvit, oxalat de calciu monohidrat și oxalat de calciu dihidrat);
 - predicția compoziției cantitative a calculilor urinari prin rețele neurale artificiale este de uz practic în laboratoarele chimice.

Contribuții originale

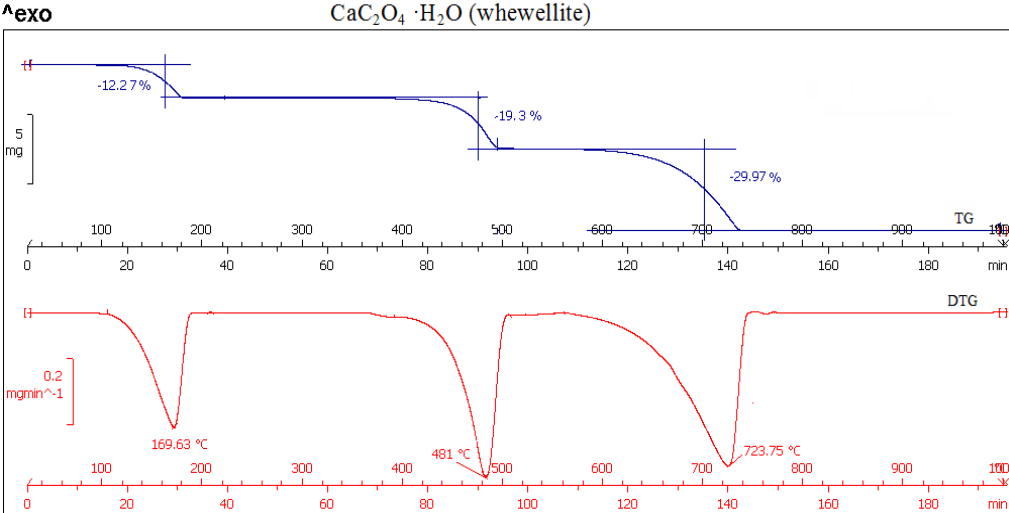
- selectarea celor mai performante metode fizico-chimice de analiză a compoziției și structurii calculilor;
- gruparea calculilor prin procedee și metode bine alese;
- introducerea algoritmului $r_1 = \text{CO}/\text{CO}_2$, respectiv $r_2 = \text{H}_2\text{O}/\text{CO}_2$ pentru determinarea prezenței în compoziția calculilor de oxalați a substanțelor organice ($r_1 > 0,636$), respectiv a amestecului $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ și $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ($0,41 < r_2 < 0,82$);
- stabilirea și verificarea compoziției calculilor micști de tip oxalat- acid uric prin compararea cu un amestec sintetic de compoziție cunoscută preparat în laborator;
- identificarea unor caracteristici specifice pentru fiecare component și corelarea acestora în cazul calculilor micști;
- abordarea studiului cinetic pentru calculii de tip oxalat de calciu comparativ cu substanța pură de oxalat de calciu monohidrat;
- utilizarea pentru prima dată a derivatei a doua a spectrelor de absorbție FT-IR la identificarea componentelor din calculii micști de tip $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ - acid uric, respectiv $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ - carbonat apatită;
- coroborarea și corelarea rezultatelor obținute prin cele trei metode (analiză termică, spectroscopie FT-IR și difracție de raze X) în vederea stabilirii limitelor și performanțelor acestora la determinarea compoziției și structurii calculilor;
- implementarea pentru prima dată a rețelelor neurale artificiale privind predicția compoziției calculilor reno-urinari;
- utilizarea unei rețele neurale artificiale pentru a cuantifica 5 componenți cel mai frecvent întâlniți în calculii urinari (acid uric, carbonat apatita, struvit, oxalat de calciu monohidrat și oxalat de calciu dihidrat);

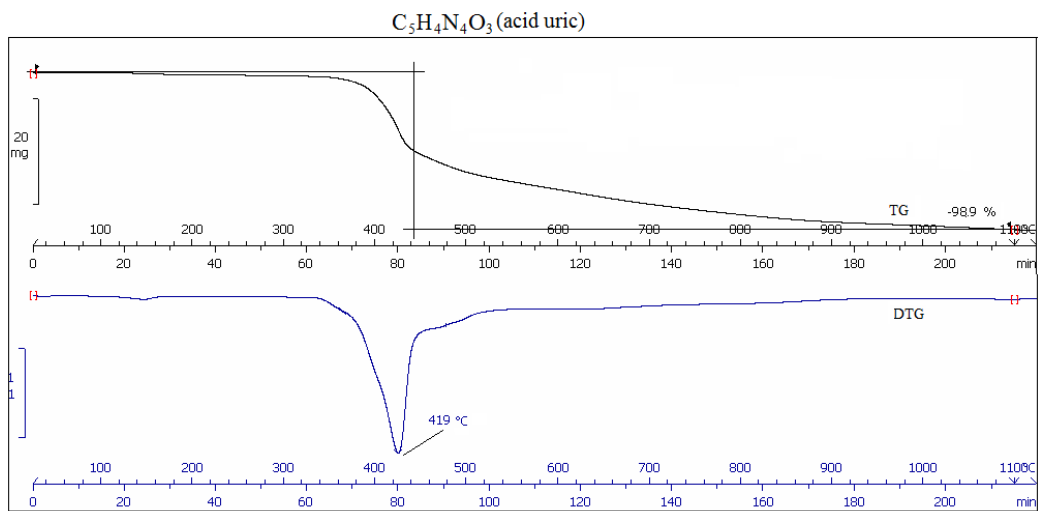
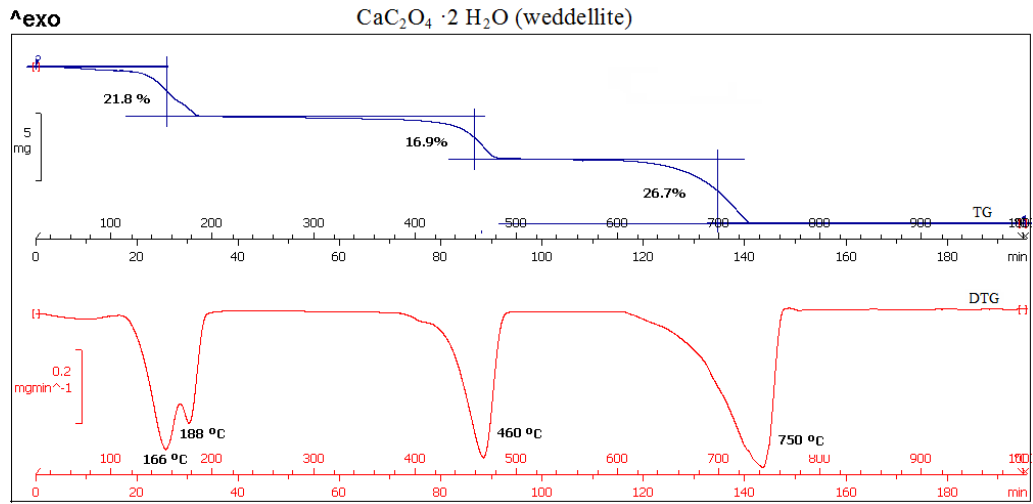
Lucrări selectate ce fac obiectul tezei

1. **G. S. Popescu (Pintilie)**, I. Varga, I. Ionescu, A. Preda: Urinary calculi as consequence of renal infection and relationship between their incidence and different dietary factors, Proc. Nutr. Soc., vol. 69 (OCE3), E269, 2010;
2. **G. S. Popescu (Pintilie)**, I. Ionescu, R. Grecu, A. Preda: The use of Infrared Spectroscopy in the Investigation of Urolithiasis, Rev. Rom. Med. Lab., vol. 18, p. 67- 77, 2010;
3. G. Daranyi, V. Bucuras, P. Dragan, Z. Garban, M. Vincu, **Georgeta-Sofia Popescu**: Profile of uroconcrements metallogram in simple lithiasis with oxalates, phosphates and urates, "Mengen und Spurenelement", vol. 20, p. 1101-1108, 2000;
4. **G. Popescu**, J. Barauskas, T. Nylander, F. Tiberg: Liquid crystalline phases and their dispersion in aqueous mixtures of glicerol monooleate and glyceryl monooleyl ether, Langmuir, vol. 23, p. 496-503, 2007;
5. **Georgeta-Sofia Popescu**, Z. Garban, G. Garban, P. Dragan, I. Ionescu, Oxalate urolithiasis: peculiarities of the etiopatogeny and composition of uroconcrements, "Trace Elements in Human: New perspectives", vol. 1, p. 453-470, 2003;
6. **Sofia Popescu**, G. Garban, R. Grecu, P. Dragan, Z. Garban: Alkaline metals in serum and urine urolithiasis disease, Macro and trace elements Mengen und Spurenelement, vol. 23, p. 267-270, 2006;
7. R. Grecu, **G. S. Pintilie- Popescu**, G. Sigartau: Use infrared spectroscopy, a preliminary phase in metallogram investigation of urolithiasis, Met. Elem. Environ., Med. Biol., vol. 6, p. 185-190, 2006;
8. **G. S. Popescu (Pintilie)**, M. Ștefănescu, E. Popovici, I. Perhaița: Evaluation of the renal calculi compositions. Thermal and FT-IR analysis, J. Therm. Anal. Calorim., spre publicare.

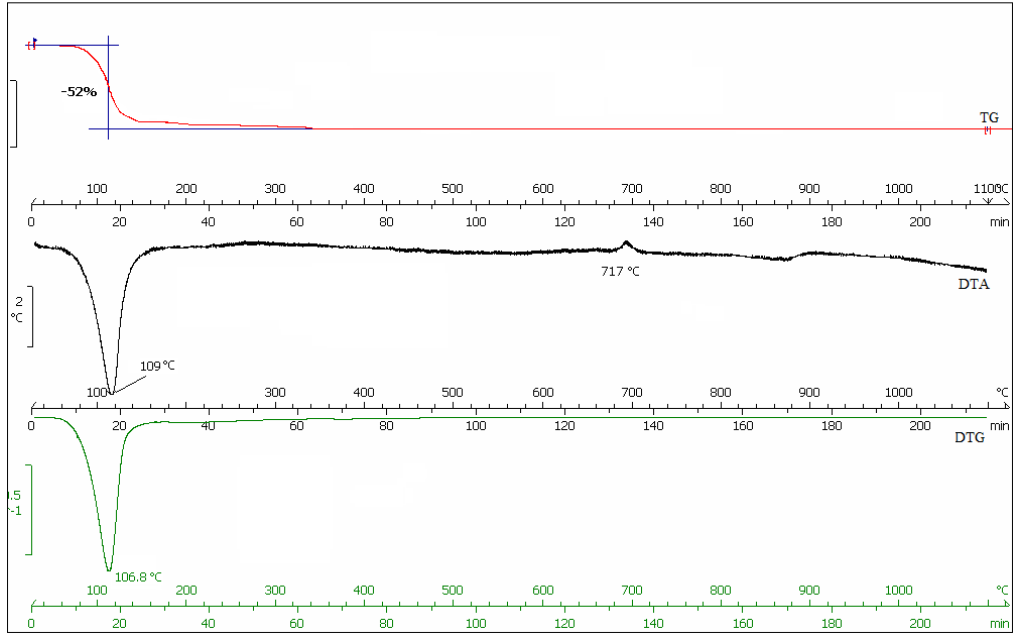
Anexa 1

Curbele termice ale etaloanelor

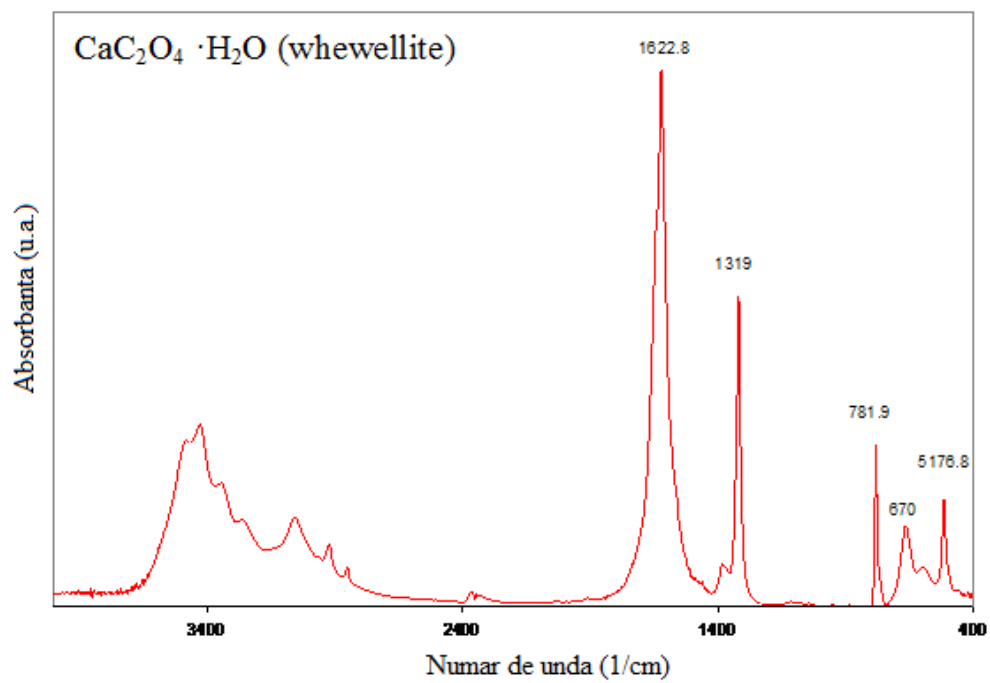


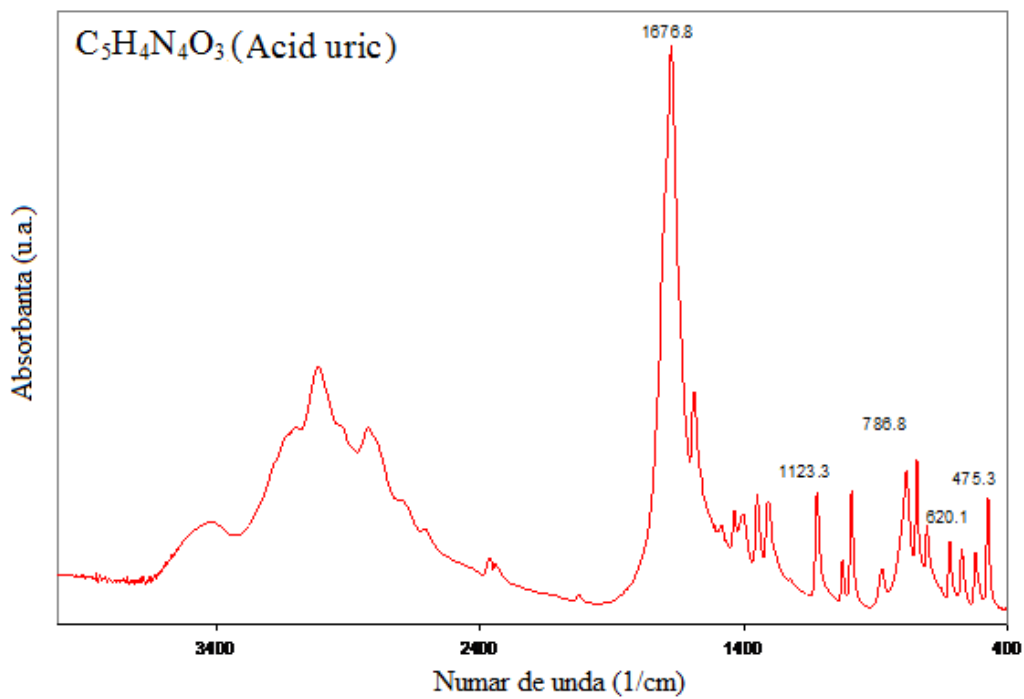
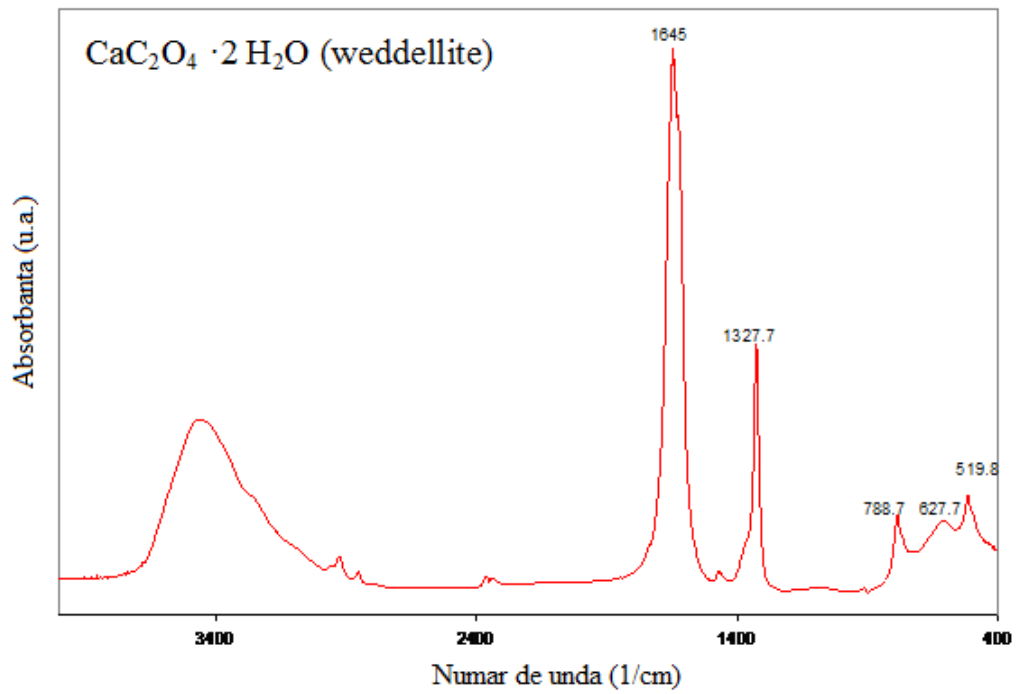


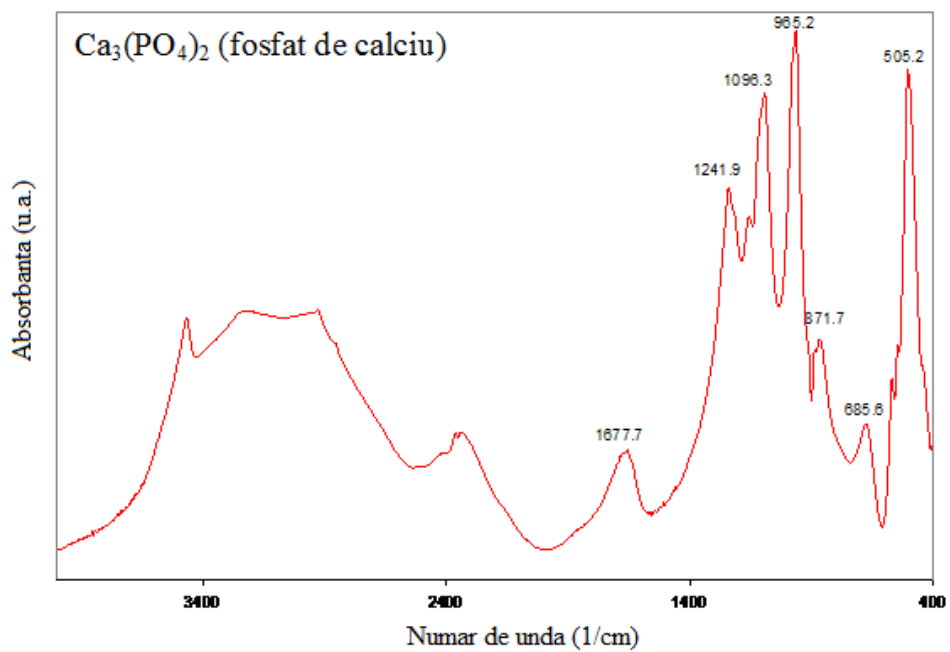
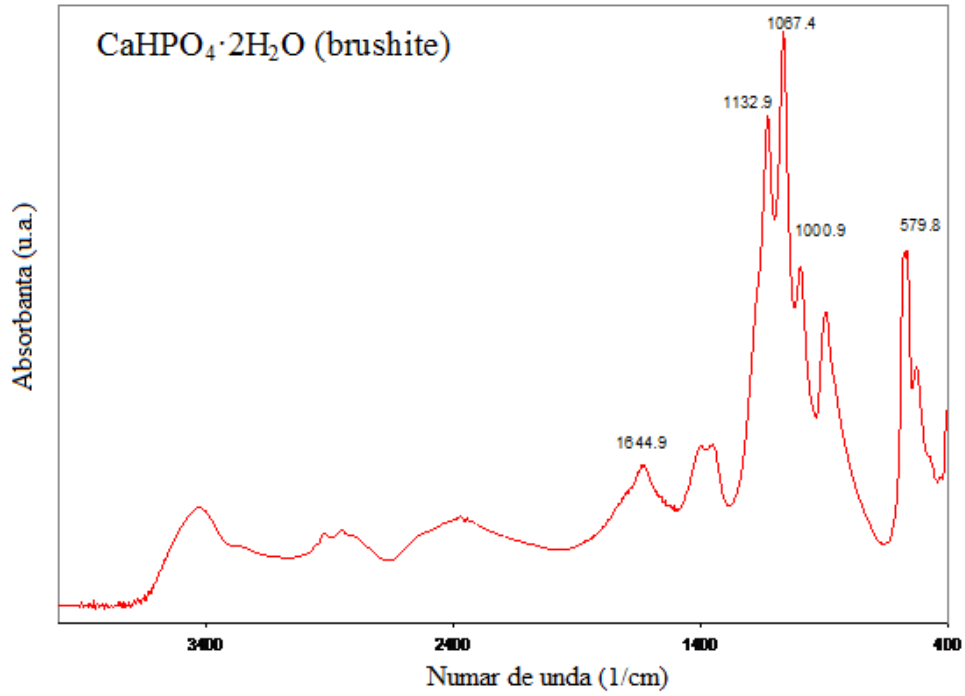
MgNH₄PO₄·6 H₂O (struvite)

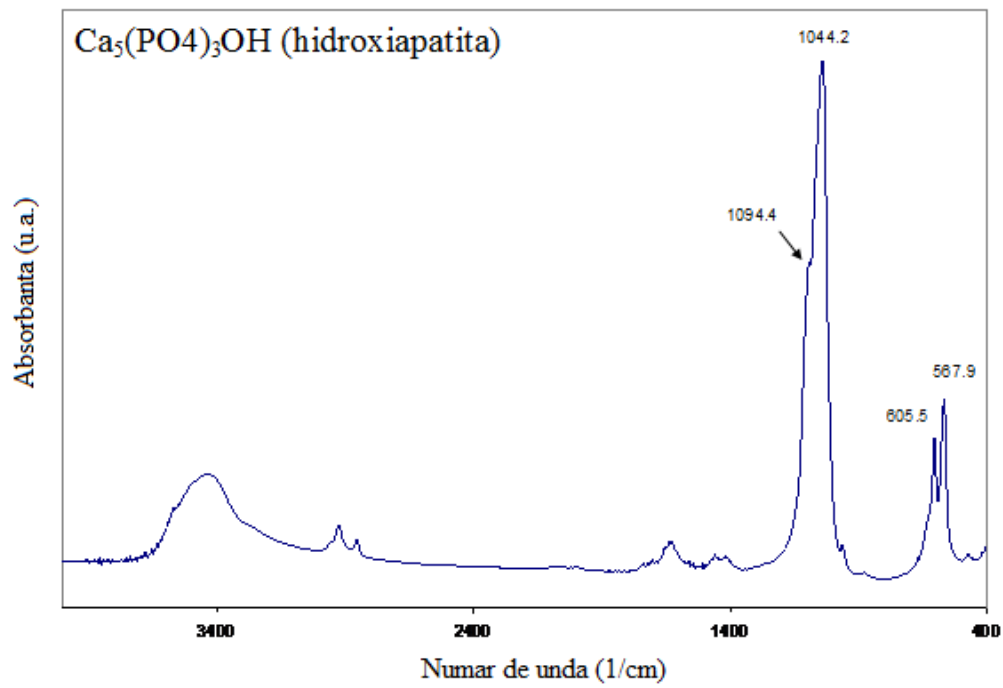
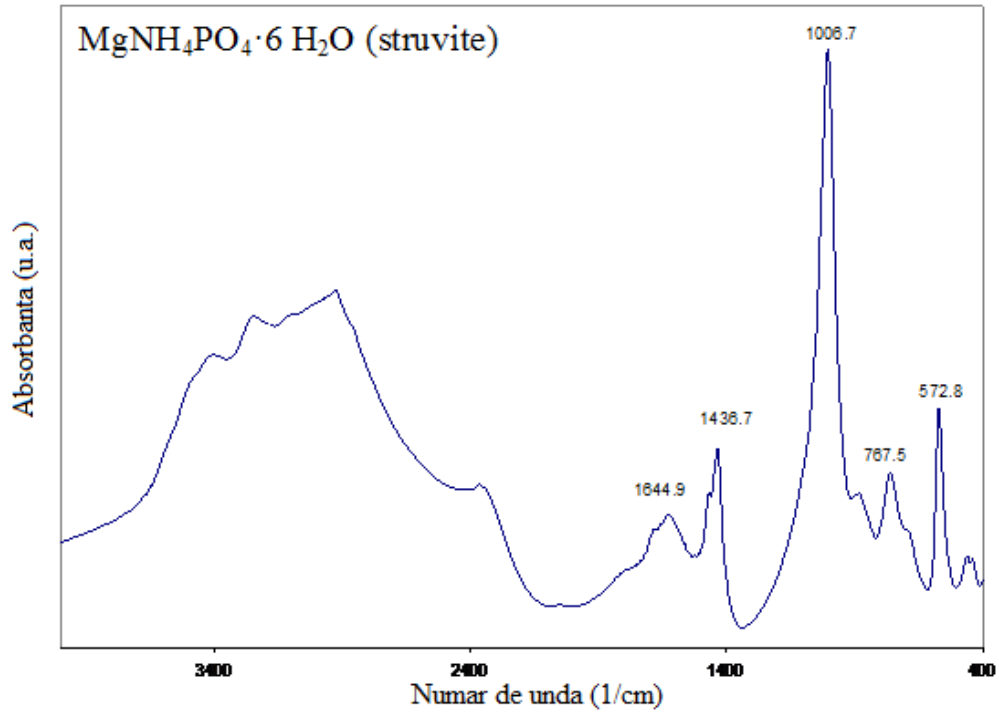


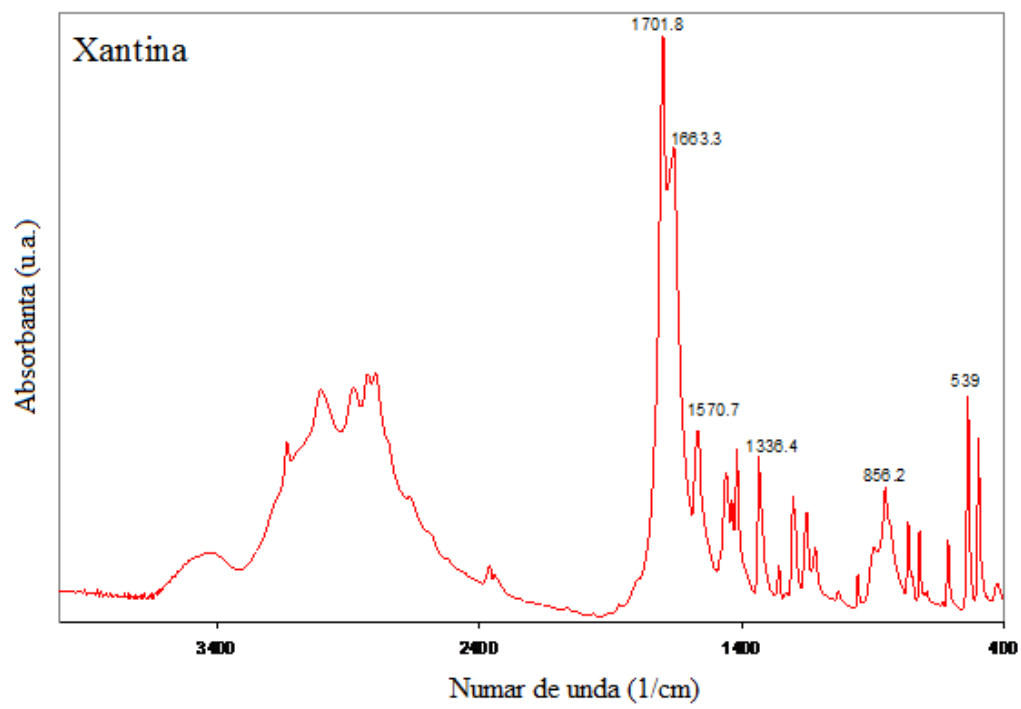
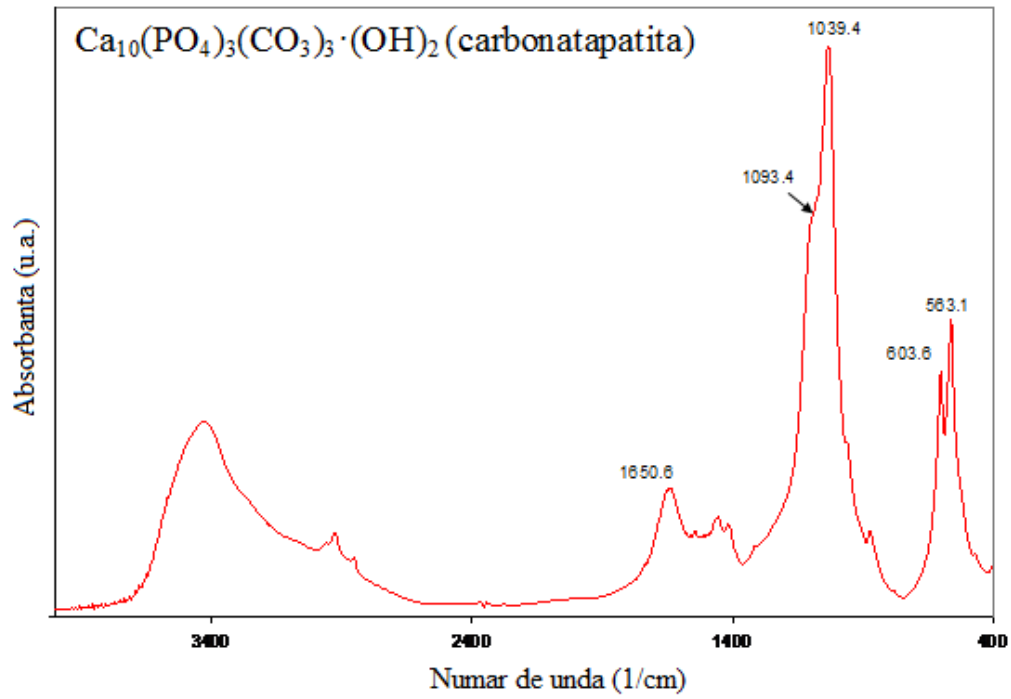
Spectre FT-IR ale etaloanelor

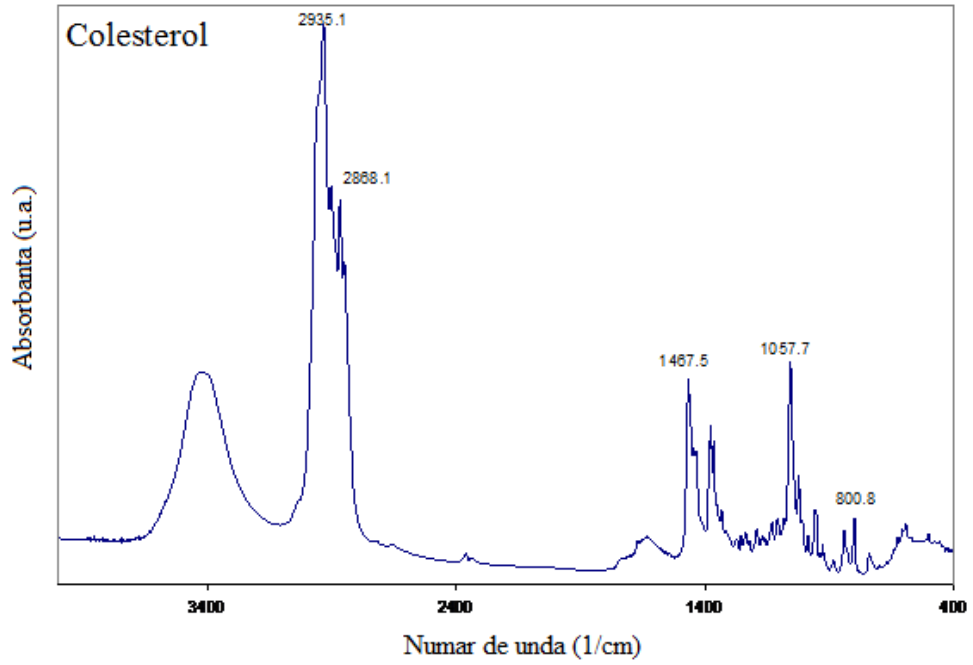












Fișe ASTM (JCPDS)

Oxalat de calciu monohidrat: $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (whewellite):

JCPDS 20 -231 monoclinic STP (HKL) +0

Oxalat de calciu dihidrat: $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (weddellite):

JCPDS 17 - 541 STP tetraedric (HKL) +0

Acid uric $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$: JCPDS 22 - 2000 STP monoclinic (HKL) +0

Carbonat apatita $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_3(\text{CO}_3)_3 \cdot (\text{OH})_2$:

JCPDS 19-272 STP hexagonal (HKL)+0

Fosfat dublu de amoniu și magneziu $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ (struvite)

JCPDS 15-762 STP ortoedric (HKL) +0

BIBLIOGRAFIE

1. J. L. Miller: Some diseases of ancient man, *Ann. Med. Hist.*, 1929;
2. A. R. Michell: Urolithiasis- historical, comparative and pathophysiological aspects: a review, *J. Royal Soc. Med.*, vol. 82, p. 669, 1989;
3. E. Braunwald, K. J. Isselbacher, R. G. Petersdorf, J. D. Wilson, J. B. Martin, A. S. Fauci: *Principles of Internal Medicine*, New York: McGraw-Hill Book Company, p. 1211-1218, 1987;
4. P. W. Boer, H. van Geuns, G. K. van der Hem, J. R. Blickman: Population survey in a community on the occurrence of stone disease, *Proc. VIIIth Congr. Soc. Int. Urol.*, vol. 2, p. 64-65, 1979;
5. J. Knight: Diagnosis and treatment of renal and uteral calculi, *Alaska Med.*, vol. 40, p. 27-30, 1998;
6. J. Phyllips: Kidney stones, *Harv. Mens. Health Watch*, vol. 4(9), p. 1-4, 2000;
7. F. Leonetti, B. Dussol, P. Berthezene, X. Thirion, Y. Berland: Dietary and urinary risk factors for stones in idiopathic calcium stone formers compared to healthy subjects, *Nephrol. Dial. Transplant*, vol. 13, p. 617-622, 1998;
8. E. Laerum: Urolithiasis in clinical practice. Occurrence, etiology, investigation and preventive treatment, *Tidsskr. Nor. Laegeforen*, vol. 116, p. 2897-2902, 1996;
9. C. Y. C. Pak: Kidney stones, *Lancet*, , vol. 351, p. 1797-1801, 1998;
10. A. Trinchieri: Epidemiology of urolithiasis, *Arch. Ital. Uro. Androl.*, vol. 68, p. 203-249, 1996;
11. A. Joul, H. Rais, R. Rabii, M. el Mrini, S. Benjelloun: Epidemiology of urinary lithiasis, *Ann. Urol.*, vol. 31, p. 80-83, 1997;
12. A. Rousand, A. Pedrajas: *Estudio epidemiologico de la urolitiasis en Espana. Grupo de Urolitiasis*, Ed. Centro de Estudios Wellcome, Madrid, 1986;
13. H. J. Schneider: *Urolithiasis: Etiology, Diagnosis*, Springer-Verlag, New York, p. 137-145, 1985;
14. G. M. Preminger: Renal calculi: Pathogenesis, diagnosis and medical therapy, *Semin. Nephrol.*, vol. 12, p. 200, 1992;
15. T. Huszar: Distribuția geografică a litiazei urinare in R.S.R., *Viața Medicală*, vol. 5, p. 207, 1971;
16. W. G. Robertson, M. Peacock: Urinary calculi in urinary calculus disease, Ed. JEA Wickham, 1st edition, Edinburgh: Churchill Livingstone, p. 354-374, 1979;
17. H. G. Tiselius: Epidemiology and medical management of stone disease, *BJU International*, vol. 91, p. 758-767, 2003;
18. M. Garcia, M Arrabal, P. Campoy: Litiasis: epidemiologia, litogenesis y clasificacion, In: J. F. Jimenez, L.A. Rioja, *Tratado de Urologia*, Tomo I. J.R. Prous Editores, Barcelona, vol. 46, p. 723-740, 1993;

19. Gh. Gluhovschi, V. Trandafirescu, A. Schiller, I. Sabau, L. Petrica: Ghid de nefrologie. Diagnostic, tratament, Ed. Helicon, Timisoara, pp. 192, 1993;
20. J. M. Ibarz, J. Lazaro, L. A. Rioja: Litiasis: sintomatologia In: J. F. Jimenez, L. A. Rioja, Tratado de Urologia, Tomo I. J.R. Prous Editores, Barcelona, , vol. 47, p. 741-781, 1993;
21. N. Angelescu, *Tratat de patologie chirurgicală*, Ed. Medicală, București, vol.II., p. 2825-2829, 2001;
22. G. K. van der Hem, B. J. Beusekamp, M. A. Rientjes, In: E. C. Carbasius Weber, G. B. Post, T. W. Swager, *Informatarium voor voeding en diëtiëk*, Ed. Bohn Stafleu Van Loghum, p. 27-30, 1989;
23. A. L. Rodgers: Effect of mineral water containing calcium and magnesium on calcium oxalate urolithiasis risk factors, *Urol. Int.*, vol. 58, p. 93-99, 1997;
24. **G. S. Popescu (Pintilie)**, I. Varga, I. Ionescu, A. Preda: Urinary calculi as consequence of renal infection and relationship between their incidence and different dietary factors, *Proc. Nutr. Soc.*, vol. 69 (OCE3), E269, 2010;
25. J. Alcover, A. Rousand, F. J. Ruiz-Marcellan, N. Serrallach, R. Serrate: Efectos adversos de las ondas de cheque, LVII Congreso Nacional de Urologia, Madrid, p. 23-37; 1992;
26. S. Ljunghall: Incidence of upper urinary tract stones, *Miner. Electrolyte Metab.*, vol. 13, p. 220, 1987;
27. S. Ljunghall, B. G. Danielson: A prospective study of renal stone recurrences, *Br. J. Urol.*, vol. 56, p. 122, 1984;
28. M. Arrabal, A. Lancina, M. Ozonas, A. Rousand, A. Conte: Aspectos economicos del tratamiento de la litiasis renal, *Actas Urologicas Espanolas*, vol. 19, p. 486, 1995;
29. **G. S. Popescu (Pintilie)**, I. Ionescu, R. Grecu, A. Preda: The use of Infrared Spectroscopy in the Investigation of Urolithiasis, *Rev. Rom. Med. Lab.*, vol. 18, p. 67- 77, 2010;
30. S. J. Scheinman: Nephrolithiasis, *Semin. Nephrol.*, vol. 19, p. 381-388, 1999;
31. G. D. Chisholm, D. I. Williams: *Scientific Foundations of Urology*, W. Heineman Medical Books Ltd., Londra, 1982;
32. P. Drăgan, G. Daranyi, A. Matusz-Vâlceanu, F. Peter, C. Bene, Z. Gârban: Investigation on decomposition and etiopathogenz of lithiasis. Some metal trace elements in simple urolithiasis, *Rev. trace macroel. Res.*, vol 1, p. 67, 1992;
33. N. Mandel: Crystal-membrane interaction in kidney stone disease, *J. Am. Soc. Nephrol.*, vol. 5, p. 37-45, 1994;
34. L. H. Smith, W. G. Robertson, C. Finlayson: *Urolithiasis, clinical and basic research*, Ed. Plenum Press, New York- London, 1981;
35. **G. S. Popescu**, G. Garban, Z. Garban, I. Ionescu, G. D. Ghibu: Crystallization and calcium oxalate urolithiasis, *Proceedings of 5th international Symposium: "Trace Elements in Human: New perspectives"*, vol. 1, p. 263-271, 2005;
36. J. E. A. Wickham: *The matrix of renal calculi*, W Heineman Medical Books Ltd., Londra, p. 323-328, 1976;

37. S. R. Khan, D. J. Kok: Modulators of urinary stone formation, *Front Biosci.*, vol. 9, p. 1540-1482, 2004;
38. H. M. van Hemsbach: Mikrogeologie, Berlin, 1856. In: P. C. Hallson, A. G. Rose: Uromocoids and urinary stone formation, *Lancet*, vol. 12, p. 1000, 1979;
39. F. Grases, A. Costa-Bauza, O. Sohnel: *Cristalizacion en disolucion. Conceptos basicos*, Editorial Reverte, Barcelona, 2000;
40. M. Robert, M. Averous: Notions fondamentales de la lithogenese oxalo-calcique urinaire, *Journal d'Urologie*, vol. 100, p. 40, 1994;
41. W. G. Robertson, M. Peacock, B. E. C. Nordin: Activity products in stone-forming and non-stone forming urine, *Clin. Sci.*, vol. 34, p. 579, 1968;
42. H. Fleisch: Inhibitors and promoters of stone formation, *Kidney Int.*, vol. 13, p. 361, 1978;
43. R. W. Marshall, M. Cochran: The relation between the concentration of calcium salts in the urine and renal stones composition in patients with calcium containing stones, *Clin. Sci.*, vol. 43, p. 433, 1972;
44. C. Ahlstrand, L. Larsson, H. Tiselius: Variations in urine composition during the day in patients with calcium oxalate stone disease, *J. Urol.*, vol. 131, p. 77, 1984;
45. Y. Ogawa: Impact of sodium-potassium citrate on the diurnal variations in urinary calcium oxalate and calcium phosphate saturation levels in normal individuals, *Brit. J. Urol.*, vol. 73, p. 133, 1994;
46. W. H. Boyce, F. K. Garvey: The amount and nature of the organic matrix in urinary calculi: A review, *J. Urol.*, vol. 76, p. 213, 1956;
47. A. Randall: Papillary pathology as a precursor of primary renal calculus, *J. Urol.*, vol. 44, p. 580, 1940;
48. N.S. Mandel, G.S. Mandel: Epitaxis between stone-forming crystals at the atomic level. In: L. H. Smith, W.G. Robertson, B. Finlayson: *Urolithiasis*, Plenum Press, New York, p. 469, 1981;
49. W. H. Boyce, F. K. Garvey: Ion-binding properties of electrophoretically homogenous mucoproteins of urine in normal subjects and in patients with renal calculus disease, *J. Urol.*, vol. 72, p. 1019, 1954;
50. J. B. Lian, E. L. Prien: The presence of protein bound γ -carboxyglutamate in calcium containing renal stones, *J. Clin. Invest.*, vol. 59, p. 1151, 1977;
51. L. Cifuentes: *Composicion y estructura de los calculos renales*, Salvat Editores, Barcelona, 1984;
52. W. G. Robertson, M. Peacock: Pathogenesis of urolithiasis. In: H. J. Schneider, M. Peacock, W. G. Robertson, W. Vahlensieck: *Urolithiasis: Etiology. Diagnosis*, Springer-Verlag, New York, p. 185-334, 1985;
53. F. Grases, A. Costa-Bauza, A. Conte: Litiasis calcica: inhibidores de la cristalizacion, In: J. A. Lancina, *Litogenesis urinaria de origen metabolico*, J&C Ediciones medicas S.L., Barcelona, vol. 6, p. 59-84, 2002;
54. M. Daudon, C. Hennequin, C. Bader, P. Jungers, B. Lacour, T. Druke: Inhibiteurs de cristallisation dans l'urine, In: *Actualites Nephrologiques*, Flammarion Med-Sci, p. 165, 1994;
55. V. Papilian: *Anatomia omului*, Editura ALL Splanhnologia, vol. II, 2008;

56. P. Groza: Fiziologie, Ed. Medicală, București, pp.468-503, 1991;
57. A. Cristescu: Fiziopatologia sistemelor: digestiv, renal, aparare nespecifica, metabolisme, Ed. Fleming, Timisoara, p.92-95, 2004;
58. R. Drake: Gray's Atlas of Anatomy, Churchill Livingstone, 2006;
59. P. Dragan: Curs de urologie, Ed. Lito U.M.F., Timisoara, 1991;
60. A. R. Michell: Urolithiasis-historical, comparative and pathophysiological aspects: a review, J. Royal Soc. Med, vol. 82, p. 669, 1989;
61. G. L. Eichhorn: Inorganic Biochemistry, Elsevier Sci Publ, Amsterdam, vol. 1 si 2, 1973;
62. **G. S. Popescu**, Z. Garban, G. Garban, C. Clep, A. B. Martau: Oxalate in food as risk factor for oxalic urolithiasis, The Annals of the "Dunărea de Jos", vol. 21, p. 90-97, 2003;
63. **G. S. Popescu**, Z. Garban, G. Garban, P. Dragan, I. Ionescu, Oxalate urolithiasis: peculiarities of the etiopatogeny and composition of uroconcrements, "Trace Elements in Human: New perspectives", vol. 1, p. 453-470, 2003;
64. R. Hautmann, F. J. Hering, W. Lutzeyer: Calcium oxalate stone disease, J. Urol., vol. 120, p. 712, 1978;
65. **G. S. Popescu**, G. Garban, Z. Garban, P. Dragan, A. B. Velcirov, Trace metals in simple and mixed oxalate urolithiasis, Proceeding of 5th international Symposium: "Trace Elements in Human: New perspectives", , Vol. I, p. 100-106, 2005;
66. M. Daudon, C.A. Bader, P. Jungers: Urinary calculi: review of clasification methods and correlations with etiology, Scanning Microsc., vol. 7, p. 1081, 1993;
67. G. Daranyi, V. Bucuras, P. Dragan, Z. Garban, M. Vincu, **G. S. Popescu**: Profile of uroconcrements metallogram in simple lithiasis with oxalates, phosphates and urates, "Mengen und Spurenelement", vol. 20, p. 1101-1108, 2000;
68. **S. Popescu**, G. Garban, R. Grecu, P. Dragan, Z. Garban: Alkaline metals in serum and urine urolithiasis disease, Macro and trace elements Mengen und Spurenelement, vol. 23, p. 267-270, 2006;
69. M. Morozumi, Y. Ogawa: The effect of the oxalate precursors on experimental calcium oxalate urolithogenesis in rats: acute and chronic administration, Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi, vol. 86(5), p. 1022-1027, 1995;
70. L. H. Smith, C. J. Van der Berg, D.M. Wilson: Current concepts in nutrition: nutrition and urolithiasis, N. Engl. J. Med., vol. 298, p. 87-94, 1987;
71. J. Hofbauer, I. Steffan, K. Hobarth, G. Vujicic, H. Schwetz, G. Reich, O. Zechner: Trace element and urinary stone formation: new aspects of the pathological mechanism of urinary stone formation, J. Urol., vol. 145, p. 93-96, 1991;
72. W. L. Nyhan: Metabolism of glycine in the normal individual and in patients with non-ketotic hyperglycinaemia, J. Inher. Metab. Dis., vol. 5, p. 105-110, 1982;
73. R. M. Goldenberg, J. A. C. Girone: Oral pyridoxine in the prevention of oxalate kidney stones, Am. J. Nephrol., vol. 16, p. 552-553, 1996;

74. C. T. Samuel, G. P. Kasidas: Biochemical investigations in renal stone formers, *Ann. Clin. Biochem.*, vol. 32, p. 112-122, 1995;
75. E. Schultz, R. Borner, P. Brundig, F. Maurer: Influence of different factors on the formation of calcium oxalate stones I. Discriminant analytical computation of morphological parameters of the pelvic-calyceal systems of calcium oxalate stone formers and controls, *Eur. Urol.*, vol. 16, p. 212-217, 1989;
76. E. Schultz, R. Borner, P. Brundig, F. Maurer: Influence of different factors on the formation of calcium oxalate stones II. Discriminant analytical computation of morphological parameters of the pelvic-calyceal systems of calcium oxalate stone formers and controls, *Eur. Urol.*, vol. 16, p. 218-222, 1989;
77. **G. S. Popescu**, R. Grecu: Urolithiasis: peculiarities of the etiopathogeny and the composition of uroconcrements, *J. Agroalim. Proc. Technol.*, vol. 12(2), p. 535 – 542, 2006.
78. T. R. Wandzilak, H. E. Williams: The hyperoxaluric syndromes, *Endocrinol. Metab. Clin. North. Am.*, vol. 19(4), p. 851-867, 1990;
79. J. J. Kuiper: Initial manifestation of primary hyperoxaluria type I in adults-recognition, diagnosis, and management, *West J. Med.*, vol. 164(1), p. 42-53, 1996;
80. S. Mann: *Biom mineralization - Principles and Concepts in Bioinorganic Materials Chemistry*, Oxford University Press, Oxford, 2001;
81. H. A. Lowenstam, S. Weiner: *On Biom mineralization*, Oxford University Press, Oxford, 1989;
82. S. Mann: The Chemistry of Form, *Angew Chem. Int. Ed.*, vol. 39(19), p. 3392-3406, 2000;
83. S. Mann: The Chemistry of Form, *Angew Chem*, vol. 112(19), p. 3532-3548, 2000;
84. S.W. Weiner, L. Addadi: Design Strategies in Mineralized Biological Materials, *J. Mater. Chem.*, vol. 7(5), p. 689-702, 1997;
85. T. Kato, A. Sugawara, N. Hosoda: Calcium carbonate – Organic Hybrid Materials, *Adv. Mater.*, vol. 14(12), p. 869-877, 2002;
86. R. Kniep, P. Simon: Fluorapatite-gelatine-nanocomposites: Self-organized Morphogenesis, Real Structure and Relations to Natural Hard Materials, *Top. Curr. Chem.*, vol. 270, p. 73-125, 2007;
87. R. Kniep, S. Busch: Biomimetic Growth and Self-Assembly of Fluorapatite Aggregates by Diffusion into Denatured Collagen Matrices, *Angew. Chem. Int.*, vol. 35(22), p. 2623-2626, 1996;
88. S. Busch, U. Schwarz, R. Kniep: Morphogenesis and Structure of Human Teeth in Relation to Biomimetically Grown Fluorapatite-gelatine Composites, *Chem. Mater.*, vol. 13(10), p. 3260-3271, 2001;
89. F. Grases, A. Costa-Bauza, L. Garcia-Ferragut: Biopathological Crystallization: A General View About the Mechanisms of Renal Stone Formation, *Adv. Colloid. Interface Sci.*, vol. 74, p. 169-194, 1998;
90. E. J. Westbury: Some Observations on the Quantitative Analysis of Over 1000 Urinary Calculi, *Br. J. Urol.*, vol. 46, p. 215-227, 1974;

91. L. H. Smith: The Many Roles of Oxalate in Nature, *Trans. Am. Clin. Climatol. Assoc.*, vol. 113, p. 1-20, 2002;
92. V. Tazzoli, C. Domeneghetti: The Crystal Structure of Whewellite and Weddellite: Re-examination and Comparison, *Am. Mineral.*, vol. 65 (3-4), p. 327-334, 1980;
93. T. Echigo, M. Kimata, A. Kyono, M. Shimizu, T. Hatta: Re-investigation of the Crystal Structure of Whewellite [$\text{Ca}(\text{C}_2\text{O}_4)\cdot\text{H}_2\text{O}$] and the Dehydration Mechanism of Caoxite [$\text{Ca}(\text{C}_2\text{O}_4)\cdot 3\text{H}_2\text{O}$], *Mineral Magazine*, vol. 69(1), p. 77-88, 2005;
94. G. Schubert, B. Ziemer: A New Calcium Oxalate Monohydrate produced by Thermal Dehydration of Weddellite, *Cryst. Res. Technol.*, vol. 16(9), p. 1025-1031, 1981;
95. S. Deganello, O.E. Piro: The Crystal Structure of Calcium Oxalate Monohydrate (Whewellite), *N. Jb. Miner. Mh.*, vol. 2, p. 81-88, 1981;
96. S. Deganello: The Basic and Derivative Structures of Calcium Oxalate Monohydrate, *Z. Kristallogr.*, vol. 152, p. 247-252, 1980;
97. S. Deganello, *The Structure of Whewellite, $\text{CaC}_2\text{O}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$, at 328K*, *Acta Cryst.*, (1981), vol. 37B, pp. 826-829.
98. D. Aquilano, M. F. Angela, *Twin Laws of Whewellite, $\text{CaC}_2\text{O}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$. A Structural and Growth*, *Approach Phys Chem Minerals*, (1981), vol. 7, pp. 124-129.
99. A. Millan, *Crystal Growth Shape of Whewellite Polymorphs: Influence of Structure Distortions on Crystal Shape*, *Cryst Growth Des*, (2001), vol. 1(3), pp. 245-254.
100. A. M. Cody, R. D. Cody, *Contact and Penetration Twinning of Calcium Oxalate Monohydrate ($\text{CaC}_2\text{O}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$)*, *J Cryst Growth*, (1987), vol. 83, pp. 485-498.
101. C. Sterling: Crystal Structure Analysis of Weddellite, $\text{CaC}_2\text{O}_4\cdot (2+x)\text{H}_2\text{O}$, *Acta Cryst.*, vol. 18, p. 917-921, (1965);
102. J. A. Mandarino, V. W. Noble: Weddellite from Biggs, *Can. Mineral.*, vol. 21, p. 503-508, 1983;
103. S. Deganello, A.R. Kampf, P.B. Moore: The Crystals Structure of Calcium Oxalate Trihydrate : $\text{Ca}(\text{H}_2\text{O})_3\text{C}_2\text{O}_4$, *Am. Mineral.*, vol. 66 (7-8), p. 859-865, 1981;
104. N.S. Blom, J.A. Kantere, W.M. Heijnen: Calcium Oxalate Trihydrate, $\text{CaC}_2\text{O}_4\cdot 3\text{H}_2\text{O}$, *Cryst. Struct. Comm.*, vol. 10, p. 1283-1288, 1981;.
105. L. Brecevic, D. Skrtic, J. Garside: Transformation of Calcium Oxalate Hydrates, *J. Cryst. Growth*, vol. 74, p. 399-408, 1986;
106. H. Yu, R. Sheikholeslami, W.O.S. Doherty: Calcium Oxalate Crystallization in Silica and Sugar Solutions- Characterization of Crystal Phases and Habit, *Powder Technol.*, vol. 160, p. 2-6, 2005;
107. W.M.M. Heijnen: The Growth Morphology of Calcium Oxalate Trihydrate: A Contribution to Urinary Stone Research, *J. Cryst. Growth*, vol. 57, p. 216-232, 1982;
108. R. L. Frost, M. L. Weier: Thermal Treatment of Whewellite- a Thermal Analysis and Raman Spectroscopic Study, *Thermochim. Acta*, vol. 409(1), p. 79-85, 2004;

109. R.L. Frost, M.L. Weier: Thermal Treatment of Weddellite- a Raman and Infrared Emission Spectroscopic Study, *Thermochim. Acta*, vol. 406(1-2), p. 221-232, 2003;
110. L. Walter-Levy, J. Laniepe: Sur la thermolyse des hydrates de l'Oxalate de calcium, *C.R. Acad. Sc. Paris*, vol. 259, p. 4685-4688, 1964;
111. R. Hocart, G. Watelle-Marion, G. Thrierr-Sorel, A. Gerard: Nature topotactique de la deshydratation, *N.C.R. Acad. Sc. Paris*, vol. 260, p. 2509-2511, 1965;
112. N. Gerard: Diagramme pression- temperature de $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ et des deux varietes polymorphiques de CaC_2O_4 , *C.R. Acad. Sc. Paris*, vol. 261, p. 2363-2366, 1965;
113. T. A. Shippey: Vibrational Studies of Calcium Oxalate Monohydrate (Whewellite) and an Anhydrous Phase of Calcium Oxalate, *J. Mol. Struct.*, vol. 63, p. 157-166, 1980;
114. R. Hocart, N. Gerard, G. Watelle-Marion: Sur la pyrolyse des Oxalates de calcium hydrates, *C.R. Acad. Sc. Paris*, vol. 258, p. 3709-3712, 1964;
115. D. Duval, R.A. Condrate: A Raman Spectral Study of the Dehydration of Calcium Oxalate Monohydrate, *Appl. Spectrosc.*, vol. 42(4), p. 701-703, 1988;
116. E. Sokol, E. Nigmatulina, N. Maksimova, A. Chiglintsev: $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ Spherulites in Human Kidney Stones: Morphology, Chemical Composition and Growth Regime, *Eur. J. Mineral.*, vol. 17, p. 285-295, 2005;
117. F.J. Opalko, S.R. Khan: Heterogeneous Nucleation of Calcium Oxalate Trihydrate in Artificial Urine by Constant Composition, *J. Cryst. Growth*, vol. 181, p. 410-417, 1997;
118. J. A. Wesson, M.D. Ward: Pathological Biomineralization of Kidney stones, *Elements*, vol. 3(6), p. 415-421, 2007;
119. S.R. Khan, D.J. Kok: Modulators of Urinary Stone Formation, *Front Biosci.*, vol. 9, p. 1450-1482, 2004;
120. W.H. Boyce: Organic Matrix of Urinary Concretions, *Am. J. Med.*, vol. 45, p. 672-683, 1968;
121. S. Sandersius, P. Rez: Morphology of Crystals in Calcium Oxalate Monohydrate Kidney Stones, *Urol. Res.*, vol. 35(6), p. 287-293, 2007;
122. A. Millan: Crystal Morphology and Texture in Calcium Oxalate Monohydrate Renal Calculi, *J. Mat. Sci.*, vol. 8(5), p. 247-250, 1997;
123. J.A. Carr: The Pathology of Urinary Calculi: Radial Striation, *Br. J. Urol.*, vol. 25(1), p. 26-23, 1953;
124. K.M. Kim, F.B. Johnson: Calcium Oxalate Crystal Growth in Human Urinary Stones, *Scanning Elect. Microsc. III*, vol. 146, p. 147-154, 1981;
125. S.R. Khan, P.A. Glenton: Calcium Oxalate Crystal Deposition in Kidneys of Hypercalciuric Mice with Disrupted type IIa Sodium-phosphate Cotransporter, *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, vol. 294(5), p. 1109-1115, 2008;
126. F. Grases, L. Masarova, O. Sohnel, A. C-Bauza: Agglomeration of Calcium Oxalate Monohydrate in Synthetic Urine, *Br. J. Urol.*, vol. 70(3), p. 240-246, 1992;
127. I. Sunagawa: Crystals Growth, Morphology and Perfection, Cambridge University Press, Cambridge, 2005;

128. H. Imai, Y. Oaki, A. Kotachi: A Biomimetic Approach for Hierarchically Structured Inorganic Crystals Through Self-organization, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, vol. 79(12), p. 1834-1851, 2006;
129. L.J.M.J. Blomen, E.J. Will, O.L.M. Bijvoet, H. Vanderlinden: Growth Kinetics of Calcium Oxalate Monohydrate II. The Variation of Seed Concentration, *J. Cryst. Growth*, vol. 64, p. 306-315, 1983;
130. B.B. Tomazic, G.H. Nancollas: *The Kinetics of Dissolution of Calcium Oxalate Hydrates, II. The Dihydrate*, *Invest. Urol.*, vol. 18(2), p. 97-101, 1980;
131. B.B. Tomazic, G.H. Nancollas, *A Study of the Phase Transformation of Calcium Oxalate Trihydrate- Monohydrate*, *Invest Urol*, (1979), vol. 16(5), pp. 329-335.
132. J.E. Crawford, E.P. Crematy, A.E. Alexander: The Effect of Natural and Synthetic Polyelectrolytes on the Crystallization of Calcium Oxalate, *Aust. J. Chem.*, vol. 21(4), p. 1067-1072, 1968;
133. T. Jung, W-S. Kim, C.K. Choi: Crystal Structure and Morphology Control of Calcium Oxalate using Biopolymeric Additives in Crystallization, *J. Cryst. Growth*, vol. 279, p. 154-162, 2005;
134. D.B. Zhang, L.M. Qi, J.M. Ma, H.M. Cheng: Morphological Control of Calcium Oxalate Dihydrate by a Double-Hydrophilic Block Copolymer, *Chem. Mater.*, vol. 14(6), p. 2450-2457, 2002;
135. B. Finlayson, C. W. Vermeulen, E. J. Steward: Stone matrix and mucoprotein from urine, *J. Urol.*, vol. 86, p. 355, 1961;
136. Tiselius H.G., Risk formulas in calcium oxalate urolithiasis, *World J. Urol.*, vol. 15, p. 176-185, 1997;
137. Y. Ogawa, T. Hatano: Comparison of the Equil2 program and other methods for estimating the ion-activity product of urinary calcium oxalate: a new simplified method is proposed, *Int. J. Urol.*, vol. 3, p. 383, 1996;
138. J. Leal, B. Finlayson: Adsorption of naturally occurring polymers onto calcium oxalate crystal surfaces, *Invest. Urology*, vol. 14, p. 278-283, 1977;
139. C. Maurer, W. Gotz: Analyse des calculus urinaires. Comparison de differentes methods d'examen chimiques et physiques pour l'analyse des calculus urinaires dans la cabinet, *Urologie B*, vol. 16, p. 226, 1976;
140. G. Nuta, C. Busneag: *Investigatii biochimice*, Ed Didactica si pedagogica, Bucuresti, 1977;
141. L. H. Smith: Dietary management of urolithiasis, *Curr. Opin Nephrol. Hypertens*, vol. 3(2), p. 189-194, 1994;
142. I. Alteras, N. Cajal, I. Cojocar, S. Comorosan, P. Iancescu, T. Ieremia, V. Kondi, N. Metrica: *Metodele laboratorului clinic*, Ed. Medicala, Bucuresti, 1964;
143. A. Hodgkinson: A combined qualitative and quantitative procedure for the chemical analysis of urinary calculi, *J. Clin. Path.*, vol. 24, p. 147-151, 1971;
144. L. Roman: *Teste analitice rapide*, Ed. Tehnica, Bucuresti, 1994;
145. I. Manta, M. Cucuianu, G. Benga, A. Hodarnau: *Metode biochimice in laboratorul clinic*, Ed. Dacia, Cluj-Napoca, 1976;
146. J. Kleeberg: Simplified qualitative chemical analysis for urinary calculi, *Technical method*, p. 1038-1039.

147. I. Kuzmanovski, M. Trpkovska, B. Soptrajanov: Optimization of supervised self-organizing maps with genetic algorithms for classification of urinary calculi, *J. Molec. Struct.*, vol. 744-747, p. 833-838, 2005;
148. E. Matouschek, R. D. Huber: *Urolithiasis: Patogenese, Diagnostik, Therapie*, Schattauer Verlag, Stuttgart, New York, 1981;
149. Z. Garban, P. Dragan, D. Ciubotariu, F. Peter, C. Muresan, M. Milos: Investigations on the composition and etiopathogeny of lithiasis. Purine urolithiasis, *Rev. Roum. Biochim.*, vol. 26(3), p. 201-208, 1989;
150. **G. S. Popescu**, I. Ionescu, A. M. Pop: Magnesium-to-calcium ratio in Valcele mineral waters and its relationship with the incidence of urolithiasis in this areal, *Proceeding of the 4th International Symposium on Trace Elements in Human: New perspectives*, p. 471-476, 2003;
151. N. A. Palchik, T. N. Moroz, N. V. Maksimova, A. V. Darin: Mineral and Microelement Compositions of Urinary Stones, *Russ. J. Inorg. Chem.*, vol. 51, p. 1098-1105, 2006;
152. J. L. Miller, Some diseases of ancient man, *Ann. Med. Hist.*, vol. 1, p. 400, 1929;
153. A. R. Michell: Urolithiasis- historical, comparative and pathophysiological aspects: a review, *J. Royal Soc. Med.*, vol. 82, p. 669, 1989;
154. M.W. Sperrin, K. Rogers: The architecture and composition of uroliths. *Brit. J. Urol.*, vol. 82, p. 781-784 1998;
155. L. Beuramdane, F. Bressolle, J.J. Vallon: Arsenic specification in humans and food products: a review, *J. Chromatogr. Sci.*, vol. 37, p. 330-344, 1999;
156. R. L. Frost, M. L. Weier: Thermal treatment of whewellite- a thermal analysis and Raman spectroscopic study, *Thermochim. Acta*, vol. 409, p. 79-85, 2004;
157. J. R. Guerra-Lopez, J. A. Guida, C. O. D. Vedova: Infrared and Raman studies on renal stones: the use of second derivative infrared spectra, *Urol. Res.*, vol. 38, p. 383-390, 2010;
158. M. Stefanescu, D. Tita, I. Ciucanu: Phosphatic renal calculi. Physico-chemical methods of investigation, *Annals West Univ. Timisoara*, vol. 5, p. 141-145, 1996;
159. M. Stefanescu, D. Tita, I. Ciucanu: Analysis of the renal calculi by thermal derivatography methods, *Annals West Univ. Timisoara*, vol. 4, p. 85-90, 1995;
160. A. L. Negri, R. Spivacow, E. Del Valle, I. Pinduli, A. Marino, E. Frandinger, J. R. Zanchetta: Clinical and biochemical profile of patients with pure uric acid nephrolithiasis compared with pure calcium oxalate stone formers, *Urol. Res.*, vol. 35, p. 247-251, 2007;
161. C. Y. Pak, K. Sakhaee, R. D. Peterson, J. R. Poindexter, W. H. Frawley: Biochemical profile of iodopathic uric acid nephrolithiasis, *Kidney Int.*, vol. 60, p. 757-761, 2001;
162. N. M. Maalouf, K. Sakhaee, J. H. Parks, F. L. Coe, B. Adams, C. Y. Pak: Association of urinary pH with body weight in nephrolithiasis, *Kidney Int.*, vol. 65, p. 1422-1425, 2004;

163. M. Daudon, R. Dausimoni, C. Hennequin, S. Fellahi, G Le Moel, M. Paris, S. Troupel, B. Lacour: Sex and age-related composition of 10617 calculi analyzed by infrared spectroscopy, *Urol. Res.*, vol. 23, p. 319-326, 1995;
164. A. Fikai, E. Andronescu, G. Voicu, Ş. Pall: Methodology of *in vitro* characterization of human uroliths, *U.P.B. Sci. Bull.*, vol. 72, p. 47-56, 2010;
165. J. Kaloustian, A. M. Pauli, G. Pieroni, H. Portugal: The use of thermal analysis in determination of some urinari calculi of calcium oxalate, *J. Therm. Anal. Calorim.*, vol. 70, p. 959-973, 2002;
166. M. Slojewsky, B. Czerny, K. Safranow, K. Jakubowska, M. Olszewska, A. Pawlik, A. Golab, M. Drozdziak, D. Chlubek, A. Sikorski: Microelements in stones, urine and hair of stoneformers: A new key to the puzzle of lithogenesis?, *Biol. Trace Elem. Res.*, vol. 137, p. 301-316, 2010;
167. J Joost, R. Tessadri: Trace element investigation in kidney stone patients, *Eur. Urol.*, vol. 13, p. 264, 1987;
168. D. Bozin, P. Chevallier, G. Matzen, P. Jungers, M. Daudon: Heavy elements in urinary stones, *Urol. Res.*, vol. 35, p. 179-184, 2007;
169. E. D. Bird, W. C. Thomas: Effect of various metals on mineralization in vitro, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, vol. 112, p. 640-643, 1963;
170. I. H. Atakan, M. Kaplan, G. Seren, T. Aktoz, H. Gul, O. Inci: Serum, urinary and stone zinc, iron, magnesium and copper levels in idiopathic calcium oxalate stone patients, *Int. Urol. Nephrol.*, vol. 39, p. 351-356, 2007;
171. M. Stefanescu: Metode fizico-chimice aplicate in chimia analitica, Ed. Politehnica, Timisoara, 1998;
172. I. Lealikov: Metode fizico-chimice de analiza, Ed Didactica si Pedagogica, Bucuresti, 1963;
173. L. Savici: Aparate de analiza fizico-chimica, Ed Tehnica, Bucuresti, 1980;
- 174.H. L. Friedman: Kinetics of thermal degradation of char-forming plastics from thermogravimetry—application to phenolic plastic, *J. Polym. Sci.*, vol. C6, p. 183-195, 1965;
175. R. Dumitru, O. Carp, P. Budrugaec, M. Niculescu, E. Segal: Nonisothermal decomposition kinetics of $[\text{CoC}_2\text{O}_4 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}]_n$, *J. Therm. Anal. Calorim.*, vol. 103, p. 591-596, 2011;
176. J. H Flynn, L.A. Wall: General treatment of the thermogravimetry of polymers, *Res. J. Natl. Bur. Stand. A. Phys. Chem.*, vol. 70A, p. 487-523, 1966;
177. A. T. Balaban, M. Banciu, I. I. Pogany: Aplicatii ale metodelor fizice in chimia organica, Ed. Stiintifica si Enciclopedica Bucuresti, 1983;
178. R. Grecu, **G. S. Pintilie- Popescu**, G Sigartau: Use infrared spectroscopy, a preliminary phase in metalogram investigation of urolithiasis, *Met. Elem. Environ., Med. Biol.*, vol. 6, p. 185-190, 2006;
179. V. Malinovschi, C. Ducu: Difractia radiatiilor X pe materiale policristaline, Ed. Universitatii din Pitesti, 2009;
180. Z. Kaid-Omar, M. Daudon, A. Attar, A. Semmoud, B. Lacour, A. Addou: Correlation entre cristallurries et composition des calculs, *Prog. Urol.*, vol. 9, p. 633-641, 1999;

181. H. J. Heller: The role of calcium in the prevention of kidney stones, *J. Am. Coll. Nutr.*, vol. 18 (5), p. 373-378, 1999;
182. E. V. Wilson, M. Junaid Bushiri, V. K. Vaidyan: Analytical characterization, thermal and FTIR studies of urinary calculi, *J. Optoelect. Biomed. Mat.*, vol. 2, p. 85 - 90, 2010;
183. M. Daudon, J.C. Dore., P. Jungers, B. Lacour: Urinary calculi: review of classification methods and correlation with etiology, *Scan. Microscop.*, vol. 7 (3), p. 1081-1106, 1993;
184. A. Fulias, B. Tita, D. Tita: *Chimie analitica calitativa. Lucrari practice*, Ed. Mirton, Timisoara, 2008;
185. N. Kuttaish, P. Aggarwal, D. Dollimore: Thermal analysis of calcium oxalate samples obtained by various preparative routes, *Thermochim. Acta*, vol. 297, p. 131-137, 1997;
186. D. Dollimore, P. Phang: *Thermal Analysis, Anal. Chem.*, vol. 72, p. 27-36, 2000;
187. A. Kohutova, P. Honcova, V. Podzemna, P. Bezdicka, E. Vecernikova, M. Louda, J. Seidel: Thermal analysis of kidney stones and their characterization, *J. Therm. Anal. Calorim.*, vol. 101, p. 695-699, 2010;
188. M. Berenyi, G. Liptay: The use of thermal analysis in medical science with special reference to nephroliths, *J. Therm. Anal.*, vol. 3, p. 437-443, 1971;
189. J. Kaloustian, A. M. Pauli, G. Pieroni, H. Portugal: The use of thermal analysis in determination of some urinary calculi of calcium oxalate, *J. Therm. Anal. Cal.*, vol. 70, p. 959-973, 2002;
190. C. Duval: *Inorganic thermogravimetric analysis*, Elsevier Publishing Comp., Amsterdam, 1983;
191. V. Croitoru, D.A. Constantinescu: *Aplicații și probleme de chimie analitică*, Ed. Tehnică, București, 1979;
192. J. Opfermann: Kinetic analysis using multivariate non-linear regression, I Basic concepts, *J. Therm. Anal. Calorim.*, vol. 60, p. 641-658, 2000;
193. H. L. Friedman: Kinetics of thermal degradation of char-forming plastics from thermogravimetry—application to phenolic plastic, *J. Polym. Sci.*, vol. 6, p. 183-195, 1965;
194. T. Ozawa: A new method of analyzing thermogravimetric data, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, vol. 38, p. 1881-1886, 1965;
195. J.H. Flynn, L. A. Wall: General treatment of the thermogravimetry of polymers, *Res. J. Natl. Bur. Stand. A. Phys. Chem.*, vol. 70, p. 487-523, 1966;
196. J. Hong, Y. Tongyin, J. Min, C. Cong, K. Zhang: Preparation, thermal decomposition and lifetime of Eu(III)-phenanthroline complex doped xerogel, *Thermochim. Acta*, vol. 440, p. 31-35, 2006;
197. R. Dumitru, O. Carp, P. Budrugaec, M. Niculescu, E. Segal: Nonisothermal decomposition kinetics of $[\text{CoC}_2\text{O}_4 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}]_n$, *J. Therm. Anal. Calorim.*, vol. 103, p. 591-596, 2011;

198. E. Urbanovici, E. Segal: On the change of the activation energy with conversion degree and heating rate for the non-isothermal dehydration of $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, *Thermochim. Acta*, vol. 107, p. 339-351, 1986;
199. S Vyazovkin: Modification of the integral isoconversional method to account for variation in the activation energy, *J. Comput. Chem.*, vol. 22, p.178 - 183, 2001;
200. P. Budrugaec, E. Segal: Some Methodological Problems Concerning Nonisothermal Kinetic Analysis of Heterogeneous Solid-Gas Reactions, *Inter. J. Chem. Kinet.*, vol. 33, p. 564-573, 2001;
201. P. Budrugaec, D. Homentcovschi, E. Segal: Critical analysis of the isoconversional methods for evaluating the activation energy. I. Theoretical background, *J. Therm. Anal. Calorim.*, vol. 63, p.457-463, 2001;
202. P. Budrugaec: The evaluation of the non-isothermal kinetic parameters of the thermal and thermo-oxidative degradation of polymers and polymeric materials: its use and abuse, *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 71, p. 185-187, 2001;
203. P. Budrugaec, E. Segal: Application of isoconversional and multivariate non-linear regression methods for evaluation of the mechanism and kinetic parameters of an epoxy resin, *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 93, p. 1073-1080, 2008;
204. P. Budrugaec: Application of model-free and multivariate nonlinear regression methods for evaluation of the thermo-oxidative endurance of a recent manufactured parchment, *J. Therm. Anal. Calorim.*, vol. 97, p. 443-451, 2009;
205. P. Budrugaec: Theory and practice in the thermoanalytical kinetics of complex processes. Application for the isothermal and non-isothermal thermal degradation of HDPE, *Thermochim. Acta*, vol. 500, p. 30-37, 2010;
206. S. Vyazovkin, W. Linert: Kinetic analysis of reversible thermal decomposition of solids, *Intern. J. Chem. Kinet.*, vol. 27, p. 73 - 84, 1995;
207. M. Trpkovska, B. Optrajanov, L. Pejov: Reinvestigation of the infrared spectra of calcium oxalate monohydrate and its partially deuterated analogues- an experimental and theoretical study, *Bull. Chem. Technol. Macedonia*, vol. 21, p. 111-116, 2002;
208. R Sai Sathish, B. Ranjit, K. M. Gadesh, G. Nageswara Rao, C. Janardhana: A quantitative study on the chemical composition of renal stones and their fluoride content from Anantapur District, Andhra Pradesh, India, *Curr. Sci.*, vol. 94, p. 104-109, 2008;
209. I. Singh: Renal geology (quantitative renal stone analysis) by "Fourier transform infrared spectroscopy", *Int. Urol. Nephrol.*, vol. 40, p. 595-602, 2008;
210. B. Klein, M. Weissman, J. Berkowity: Clinical Application of Infrared Spectroscopy, *Clin. Chem.*, vol. 6 (5), p. 453-465, 1960;
211. **G. S. Popescu (Pintilie)**, M. Ștefănescu, E. Popovici, I. Perhaița: Evaluation of the renal calculi compositions. Thermal and FT-IR analysis, *J. Therm. Anal. Calorim.*, spre publicare.
212. M. Afzal, M. Iqbal, H. Ahmad: Thermal analysis of renal stones, *J. Therm. Anal. Calorim.*, vol. 38, p. 1671-1682, 1992;

213. R. Agarwal, V. R. Singh, M. M. Pradhan, V. Singh: Infrared spectroscopy for the study of urinary calculi, *Int. J. Infrared Milli.*, vol. 12, p. 115-123, 1991;
214. M. S. Ansari, N. P. Gupta, A. K. Hemal, P. N. Dogra, A. Seth, M. Aron, T. P. Sigh: Spectrum of stone composition: structural analysis of 1050 upper urinary tract calculi from northern India, *Int. J. Urol. Vol.* 12, p. 12-18, 2005;
215. V. B. Nalbandyan: X-ray diffraction analysis of urinary calculi: need for heat treatment, *Urol. Res.*, vol. 36, p. 247-249, 2008;
216. **G. Popescu**, J. Barauskas, T. Nylander, F. Tiberg: Liquid crystalline phases and their dispersion in aqueous mixtures of glicerol monooleate and glyceryl monooleyl ether, *Langmuir*, vol. 23, p. 496-503, 2007;
217. M.A. E. Wandt, A.L. Rodgers: Quantitative X-Ray diffraction analysis of urinary calculi by use of the Internal-Standard method and Reference Intensity Ratios, *Clin. Chem.*, vol.34, p. 289, 1988;
218. R. Habbdel-Alim, M. Abdel-Alim: A review of urinary stone analysis, *Saudi Med. J.*, vol. 27 (10), p. 1462-1467, 2006;
219. A. Costa Bauza, M. Ramis, V. Montesinos, A. Conte, P. Piza, E. Pieras, F. Grases: Type of renal calculi: variation with age and sex, *World J. Urol.*, vol. 25, p. 415- 421, 2007;
220. G. Madhurambal, R. Subha, S. Majumdar: Crystallization and thermal characterization of calcium hydrogen phosphate dehydrate crystals, *J. Therm. Anal. Calorim.*, vol. 96 (1), p. 73-76, 2009;
221. J. Ouyang, X. Yao, Z. Su, F. Cui: Simulation of calcium oxalate stone in vitro, *Sci. China*, vol. 46 (3), p. 234-242, 2003;
222. Y. M. Marickar, P. R. Lekshmi, L. Varma, P. Koshy: Elemental distribution analysis of urinary crystals, *Urol. Res.*, vol. 37 (5), p. 277-282, 2009;
223. Z. Gârban, G. Nemes, L. Martoni, G. Daranyi, D. Popeți, P. Drăgan: Utilizarea spectroscopiei de absorbție atomică la decelarea compoziției metalice a calculilor în urolitiază, *Timișoara Medicală*, vol. 27(4), p. 35-40, 1983;
224. **S. Popescu**, G. Garban, R. Grecu, P. Dragan, Z. Garban: Alkaline metals in serum and urine urolithiasis disease, *Macro and trace elements Mengen-und Spurenelement*, vol. 23, p. 267-270, 2006;
225. **G. S. Pintilie (Popescu)**, P. Dragan: Prediction of stone disease by artificial neural networks, *Proc. Int. Conf. Res. People Actual Task Multidisc. Sci.*, vol. 3, p. 129-133, 2009;
226. M. L. Astion, M. H. Wener, R. G. Thomas, G. G. Hunder, D. A. Bloch: Overtraining in neural networks that interpret clinical data, *Clin. Chem.*, vol. 39, p. 1998-2004, 1993;
227. E. Grases, A. Millan, A. Conte: Production of calcium oxalate monohydrate, dihydrate or trihydrate -A comparative study, *Urol. Res.*, vol. 18, p. 17-20, 1990;
228. A. Hesse, G. Sanders: Atlas of infrared spectra for the analysis of urinary concrements, Stuttgart: George Thieme Verlag, 1988;
229. N. Q. Dao, M. Daudon: Infrared and Raman spectre of calculi, Elsevier, Paris, 1997;

230. I. Kuzmanovski, Z. Zografski, M. Trpkovska, B. Soptrajanov, V. Stefov: Simultaneous determination of composition of human urinary calculi by use of artificial neural networks, *Fresenius J. Anal. Chem.*, vol. 370 (7), p. 919-923, 2001;
231. J. Zupan, J. Gasteiger: Neural networks: a new method for solving chemical problems or just a passing phase?, *Anal. Chim. Acta*, vol. 248, p. 1-30, 1991;
232. M. Volmer, B. G. Wolthers, H. J. Metting, T. H. Y. de Haan, P. M. J. Coenegracht, W. van der Slik – Artificial neural network predictions of urinary calculus compositions analyzed with infrared spectroscopy, *Clin. Chem.*, vol. 40, p. 1692–1697, 1994;
233. M. Volmer, A. Bolck, B. G. Wolthers, A. J. de Ruiter, D. A. Doornbos, W. van der Slik: Partial least-squares regression for routine analysis of urinary calculus composition with Fourier transform analysis, *Clin. Chem.*, vol. 39, p. 948-954, 1993;