MASARYKOVA UNIVERZITA

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Bakalářská práce

Ivana Součková

Brno 2019

MASARYKOVA UNIVERZITA

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Aplikace petrologicko-mineralogických metod při studiu litiázy v lidském těle

Bakalářská práce

Ivana Součková

Vedoucí práce: doc. RNDr. Jaromír Leichmann, Dr. rer. nat.

Ústav geologických věd

Brno 2019

Bibliografický záznam

Autor:	Ivana Součková Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita Ústav geologických věd
Název práce:	Aplikace petrologicko-mineralogických metod při studiu litiázy v lidském těle
Studijní program:	Geologie
Studijní obor:	Geologie
Vedoucí práce:	doc. RNDr. Jaromír Leichmann, Dr. rer. nat.
Akademický rok:	2018/2019
Počet stran:	20+7
Klíčová slova:	Litiáza; apatit; struvit; fosfáty; urolitiáza; zubní kámen; konkrement; apatitové kuličky; jehlice; krystalizace; jádro

Bibliographic Entry

Author:	Ivana Součková Faculty of Science, Masaryk University Department of geology
Title of Thesis:	Application of petrological-mineralogical methodology in the study of human lithiasis.
Degree programme:	Geology
Field of Study:	Geology
Supervisor:	doc. RNDr. Jaromír Leichmann, Dr. rer. nat.
Academic Year:	2018/2019
Number of Pages:	20+7
Keywords:	Lithiasis; apatite; struvite; phosphates; urolithiasis; dental calculus; apatite spherules; needles; crystallization; nucleus

Abstrakt

Proces utváření konkrementů v organismu je dynamický, a závislý na okolním prostředí, ve kterém se samotný konkrement formuje. Faktory, které mohou ovlivnit vývoj konkrementu in vivo, můžou být hodnota pH, či koncentrace látek jako sodík, draslík či vápník a další. Vzájemné působení mezi minerály a jejich komponent se může projevovat například rozpouštěním minerálu, nahrazení minerálem jiného složení, změnou morfologie krystalu a jeho kvality, nebo přechodem z krystalické struktury minerálu na jeho amorfní fázi.

V této bakalářské práci se věnuji fosfátovým konkrementům, ukládaným v lidském těle, se zaměřením na vztah mezi minerály apatitem a struvitem. Fosfátové konkrementy se vyskytují v organismu například jako sedimenty na zubech, známé jako zubní kámen; časté výskyty jsou také v ledvinách a výlučných cestách močových. V práci jsou popsány apatitové a struvitové minerály a jejich mineralogické vlastnosti z různých částí lidského těla. Na studovaném vzorku, jímž je fosfátový konkrement z močových cest, se prokázal vliv okolního prostředí na vývoj konkrementu. Jednotlivé struktury jsou rozmanité, vyskytují se útvary jako jehlice, kulovité agregáty či masivní útvary. Byly provedeny bodové analýzy se zaměřením na jejich složení. Studium močového konkrementu bylo provedeno na elektronovém skenovacím mikroskopu (SEM).

Abstract

The process of forming concrements in an organism is dynamic, and it depends on the enviroment where the concrement is formed. Factors, which can affect the progress of concrement in vivo, can be degree of pH or concentration of substances like natrium, potassium or calcium and others. Mutual interaction between minerals and their components might be shown for example as dissolution of mineral, replacement by the mineral of different compound, change of crystal morphology and its quality, or transition from crystallic structure of mineral to amorphous phase.

In this thesis I study phosphate concrements deposited in human body, focused on relationship between minerals apatite and struvite. Phosphate concrements are occurred in organism as sediments on teeth, well known as dental calculus, common occurrences are also in urinary system and kidneys, known as kidney stones (calculi). Apatite and struvite minerals from different parts of human body and their mineralogical attributes are described. On the sample, which is phosphate concrement from urinary system, was proven the influence of the enviroment for evolution of the concrement. The structures, as needles, spherules or masive formations, were performed by analysis of selected point locations with focusing for their constituon. The study of urinary calculi stone is made by scan electron microscope (SEM).

Masarykova univerzita

Přírodovědecká fakulta

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Student: **Ivana Součková**

Studijní program: **Geologie**
Studijní obor: **Geologie**

Ředitel Ústavu geologických věd PřF MU Vám ve smyslu Studijního a zkušebního řádu MU určuje bakalářskou práci s tématem:

Aplikace petrologicko-mineralogických metod při studiu litiázy v lidském těle

Application of petrological-mineralogical methodology in the study of human lithiasis

Oficiální zadání: Ke vzniku pevných formací (kamenů, konkrementů) dochází na různých místech v lidském těle. Nejznámější výskyty jsou v ledvinách a výlučných cestách močových (ledvinové kameny), nicméně především fosfátové konkrementy nalezneme i ve slinných žlázách, na zubech (zubní kámen) nebo v prostatě. Studentka zpracuje pomocí literatury dosavadní údaje o konkrementech v lidském těle. Bude porovnávat jejich typické znaky, jak makroskopické (velikost, barva, tvar), tak mikroskopické (vnitřní stavba) se zaměřením na složení. Cílem práce bude pokusit se identifikovat, jak se konkrementy v různých částech těla liší či shodují a jaké mechanismy tvorby a růstu je ovlivňují. Na vybraných vzorcích provede mikroskopické a mikrosondové studium. V diskuzní části se zaměří na srovnání publikovaných údajů s vlastními výsledky.
Doporučená literatura: podle zadání školitele

Jazyk závěrečné práce: čeština
Vedoucí bakalářské práce: doc. RNDR. Jaromír Leichnamm, Dr. rer. nat.
Podpis vedoucího práce:
Datum zadání bakalářské práce: listopad 2018

V Brně dne 26. 11. 2018

Doc. RNDr. Zdeněk Losos, CSc.
ředitel Ústavu geologických věd

Zadání bakalářské práce převzal dne: Podpis studenta

Poděkování

Na tomto místě bych chtěla poděkovat svému vedoucímu práce doc. RNDr. Jaromíru Leichmannovi, Dr. rer. nat. za skvělé vedení a věcné připomínky, RNDr. Tamaře Kořistkové za poskytnuté vzorky a průběžné odborné konzultace a doc. RNDr. Jindřichu Štelclovi, CSc. za asistenci při měření na SEM.

Moc děkuji své rodině a blízkým za obrovskou podporu a trpělivost.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem svoji bakalářskou práci vypracovala samostatně s využitím informačních zdrojů, které jsou v práci citovány.

Brno, 10. května 2019 ……

Ivana Součková

Obsah

1. Úvod 1
2. Litiáza 2
2.1. Rozdělení litiázy 2
2.1.1. Podle místa vzniku v těle 2
2.1.2. Podle chemického složení 2
3. Fosfátová skupina 3
3.1. Skupina apatitu 5
3.1.1. Mineralogické vlastnosti apatitu 5
3.2. Struvit 6
3.2.1. Mineralogické vlastnosti struvitu 8
4. Metodika 9
5. Výsledky 10
5.1. Chemismus 12
5.2. Centrální zóna 13
5.3. Mezizóna 14
5.4. Periferie 16
6. Diskuze a interpretace 18
6.1. Vnitřní stavba konkrementu 18
6.2. Chemické složení vrstev 18
6.3. Vliv pH na vnitřní stavbu 18
7. Závěr 20
8. Seznam literatury 21
9. Seznam zkratek 23
10. Přílohy 24

1. Úvod

Litiáza je nemocí, která je charakterizována tvorbou pevných formací v organismu. Nejznámější výskyty litiázy jsou konkrementy v močových cestách a ledvinách (ledvinové kameny), nicméně se za litiázu považují také například zubní kámen či konkrementy vzniklé ve slinných žlázách. Vzhledem k tomu, že je litiáza nemocí s tendencí k častým recidivám, nestačí se spokojit pouze s destrukcí konkrementu uvnitř těla, ale je nutná i prevence. Pro zajištění kvalitní metafylaxe a profylaxe je důležité zjistit, z čeho se konkrement skládá, jaké je jeho složení a za jakých podmínek se litiáza tvoří. Destrukce konkrementů je dnes prováděna chirurgickými zákroky (příloha 1), RIRS (Gokce et al., 2016), použitím litotrypse (ESWL) nebo PCNL (Knoedler et al., 2015). Přes relativně okamžité řešení problému jsou však tyto zákroky náročné pro organismus. Dochází při nich k traumatizaci okolního prostředí, některé zákroky mohou vést až postižení funkce ledvin (Stejskal, 2007; Kaude et al., 1985), a v neposlední řadě nezajistí dlouhodobý efekt. Mimo jiné jsou ekonomické náklady na destrukci kamene relativně vysoké (Canvasser et al., 2017).

Pro analýzu těchto konkrementů je zapotřebí použít petrologických a mineralogických metod, díky kterým je možné zjistit složení konkrementů, jejich stavbu a další. Dosavadní poznatky o oxalátových, urátových a cystinových konkrementech jsou obsaženy v rešeršní práci (Součková, 2019), v této práci se věnuji především fosfátovým konkrementům, konkrétně vztahu mezi minerály AP-ST, jelikož se tento vztah odráží ve studovaném a analyzovaném vzorku.

2. Litiáza

Litiáza je onemocnění, při němž se v organismu shlukují krystaly do konkrementů. Jedná se o nerovnováhu ve vztahu mezi krystalotvornými látkami a inhibitory krystalizace. Výskyt krystalů v moči znamená obvykle pouhé přesycení moči krystalotvornými látkami. Může být však považováno jako první stupeň tvorby močového kamene. Základem konkrementu je organická matrix, která tvoří 2-3 % hmotnosti konkrementu (Stejskal, 2007). Konkrementy se považují za heterogenní směs látek, kterou tvoří obvykle dvě až čtyři hlavní komponenty. Monokomponentní konkrementy se vyskytují v menší míře (Dubanský & Zich 1994). Stejskal (2007) uvádí, že s přibývajícím počtem recidiv urolitiázy dochází ke konverzi z kalcium oxalátu na kalcium fosfát, to znamená, že se s počtem recidiv mění složení kamene.

2.1. Rozdělení litiázy

2.1.1. Podle místa vzniku v těle

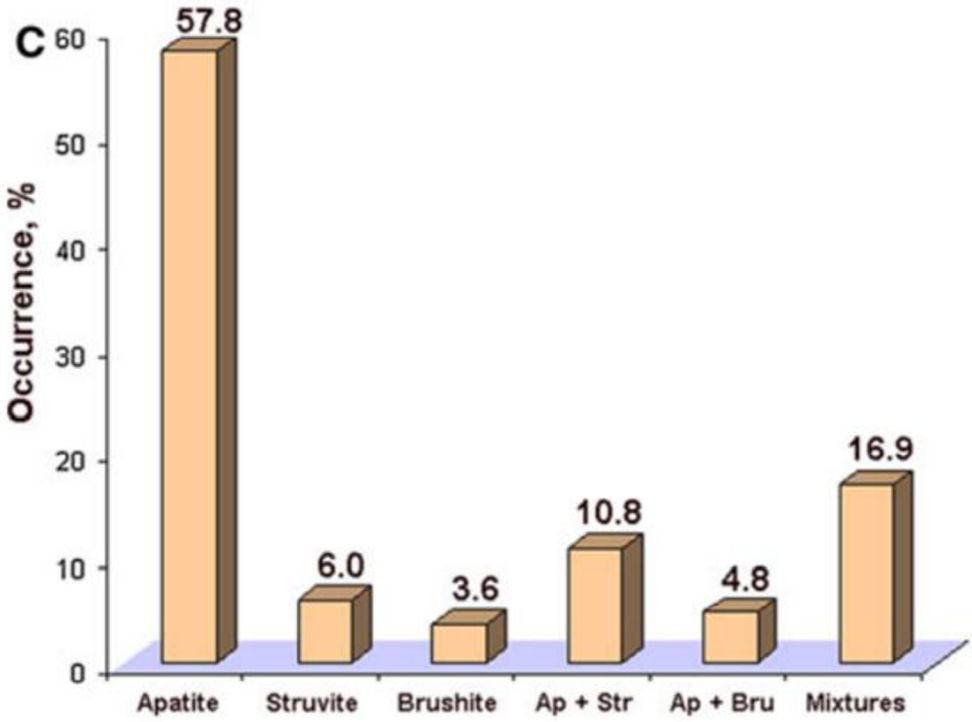
Konkrementy z jednotlivých míst vzniku se liší složením, velikostí, barvou i tvarem. Sialolitiáza je tvorba konkrementů ve vývodu slinných žláz. Pankreatolitiáza jej druh litiázy, kdy se tvoří kameny ve vývodu slinivky břišní. Při cholecystolitiáze a choledocholitiáze vznikají konkrementy ve žlučníku, či žlučovodu (Stejskal, 2007). Nejpopsanější skupinu tvoří urolitiáza, při které se konkrementy tvoří v močových cestách, a podle Stejskala (2007) se dále dělí podle výskytu v močovém traktu na cystolitiázu (v močovém měchýři), nefrolitiázu (v dutém systému ledvin), ureterolitiázu (v močovodu), uretrolitiázu (v močové trubici), a prostatolitiázu (vznik konkrementů z prostatického sekretu). Vzácný typ litiázy je intraskrotální.

2.1.2. Podle chemického složení

Konkrementy se skládají z organických i anorganických látek. Jako anionty jsou zde zastoupeny oxaláty, fosfáty a uráty, v minoritních obsazích obvykle F^-, Cl^- a OH^- (Dubanský at al., 1994). Přehled zastoupení aniontů je v příloze 2. Zvláštním typem litiázy podle chemického složení je litiáza cystinová, která se vyznačuje trvalým vylučováním aminokyselin močí a tvorbou cystinových konkrementů. Jedná se o vrozenou a dědičnou metabolickou poruchu (Křížek, 1981).

3. Fosfátová skupina

Vzorec fosfátů se odvozuje od kyseliny fosforečné H_3PO_4. Jedná se o rozsáhlou skupinu konkrementů s chemickým označením fosforečnany, tvořenou aniontem $(PO_4)^{3-}$. Dále se rozdělují dle případného obsahu vody na vodnaté a bezvodé. Nejzastoupenějším minerálem v této skupině je apatit, přesněji apatitová skupina, a to jak monominerální stavbě, tak v kombinaci s dalšími minerály (Uvarov, 2011).

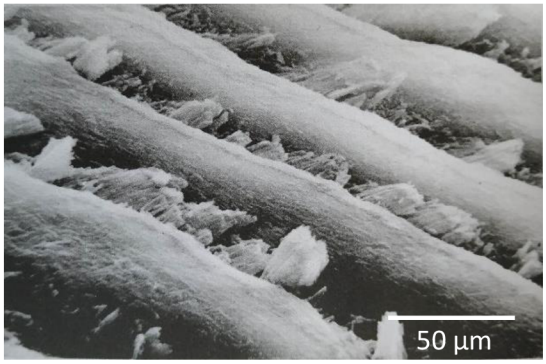


Graf 1 Zastoupení minerálů v rámci fosfátové skupiny minerálů na vybraných vzorcích konkrementů z Izraele (Uvarov, 2011).

Minerály apatitové skupiny obsahují základní stavební jednotku PO_4 tetraedru. Přítomnost fosfátů v organismu je fyziologická, skupina PO_4 je obsažena v DNA, v zubech či kostech obratlovců, v nichž obsahují až na 70 % fosforečnanu vápenatého, zbytek tvoří 30 % organického materiálu. Je také součástí téměř všech potravin, denní příjem potravou je 1,2-1,5 g fosforu. Obsah v plasmě je 11-13 mmol/l fosfátů, z toho 0,8-1,6 mmol/l anorganického fosforu. S metabolismem fosforu v těle souvisí také metabolismus vápníku (kalcia). Hodnoty fosfatemie

přímo ovlivňuje např. hormon parathormon, vylučovaný příštítnými tělísky, který zvyšuje hladinu vápníku v krvi (vylučování Ca^{2+} snižuje), naopak vylučování fosfátů podporuje. Resorpce vápníku probíhá paralelně s resorpcí Na^{+} (Silbernagl et al., 1993). Vstřebávání fosfátů je ovlivněno také při alkalizaci, při které vznikají téměř nerozpustné neutrální fosfáty, které se v trávicím traktu neabsorbují. Absorbci fosfátů lze dosáhnout při okyselování či nadbytku kalciferolu (derivátu vitamínu D). Hodnotu pH moči lze dosáhnout také užíváním léčiv (příloha 3). Podáváním látek vázající střevní fosfáty (tzv. „Al“ antacida) lze ovlivnit výskyt struvitové litiázy (Stejskal, 2007). Fosfátová litiáza vzniká při nadbytku fosforu v organismu. Silným inhibitorem krystalizace apatitu je pyrofosfát (Ibsen et al., 2018; Stejskal, 2007), a zároveň se podílí na regulaci tvorby apatitu během tvorby kostí.

Obr. 1 Krystaly struvitu v jeho typické „rakvičkovité“ formě (upraveno podle Michalce, 1988).



Obr. 2 SEM snímek struktury prizmatických krystalů apatitu v zubní sklovině (upraveno podle Wenk, Bulakh, 2004).

Další významným výskytem fosfátové litiázy je zubní kámen. Zubní kámen je produktem mineralizace ze slinných žláz (sialolitiáza). Je složen z organické a anorganické složky. Anorganická složka je tvořena fosforečnanem vápenatým (75,9 %), dalšími minoritními složkami jsou uhličitan vápenatý a fosforečnan hořečnatý (Škach & Kostlán, 1973). Rozděluje se podle místa nálezu (příloha 4) na supragingivální (nad dásňovým lemem) a subgingivální (v dásňovém žlábku). Právě stupeň vývoje zubního kamene zřejmě závisí na jeho složení. V prvotní fázi supragingiválního kamene je nejvýraznější množství brushitu. Obě lokalizace zubního kamene obsahují hydroxylapatit, oktakalciumfosfát a whitlockit, nicméně v subgingiválním kameni je převažující množství whitlockitu (Sundberg et al., 1985).

3.1. Skupina apatitu

Apatit je souhrnný název pro skupinu minerálů podobného složení. Obecný chemický vzorec je $Ca_5(PO_4)_3(Cl, F, OH, CO_3^{-2})$. Dle koncových členů ve vzorci se dále apatit rozděluje na hydroxylapatit, fluorapatit, chlorapatit a karbonátapatit s proměnlivými podíly OH a CO_3 (Petránek, 2007). Dalšími členy, které spadají do apatitové skupiny, jsou oktakalciumfosfát ($Ca_8H_2(PO_4)_6.5H_2O$), nebo whitlockit se vzorcem $Ca_3(PO_4)_2$, jehož jiný název je β-trikalciumfosfát (Kořístková, 2004). Z mineralogického hlediska je symetrie hexagonální (oddělení dihexagonálně dipyramidální). Obsahuje tetraedry PO^4, které jsou propojeny přes kationty Ca^{2+} (Vávra & Losos, 2013). Kalciumfosfát vytváří malé prismatické krystaly, v délce méně než 1000 Å, strukturou a složením odpovídající apatitu (Ivanova et al., 2001). Hydroxylapatit se vzorcem $Ca_5(PO_4)_3(OH)$ tvoří krátce sloupcovité a tabulkovité krystaly a vláknité agregáty. Vápenaté ionty reagují s fosfátovými nebo uhličitanovými ionty za vzniku fosforečnanu vápenatého (hydroxylapatitu) dle rovnice:

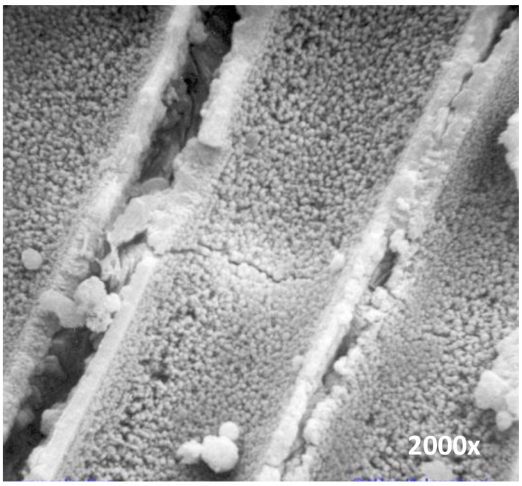
$$5Ca^{2+} + 3PO_4^{3-} + H_2O \longrightarrow Ca_5(PO_4)_3(OH) + H^+$$

Apatit se nachází v magmatických, metamorfovaných i sedimentárních horninách, vyskytuje se i v organismu v kalcifikovaných tkáních, nejčastěji v nanokrystalické formě (Shi et al., 2003). Oktakalciumfosfát má vyšší rozpustnost než apatit, vzniká v neutrálním, až slabě kyselém pH. Whitlockit ($Ca_3(PO_4)_2$, β-trikalciumfosfát) se vysráží i za slabě kyselého pH (Kořístková, 2004)

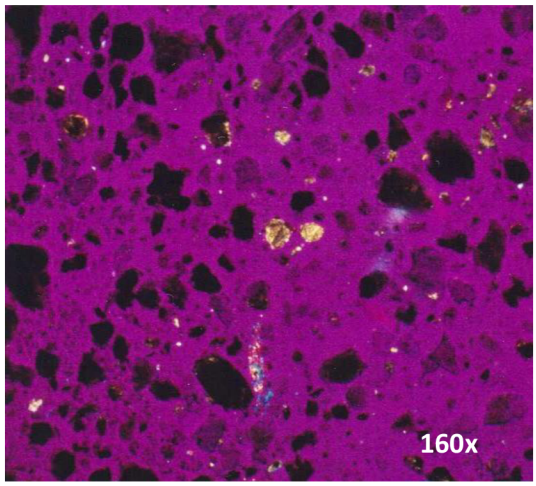
3.1.1. Mineralogické vlastnosti apatitu

Skupina apatitu vytváří při urolitiáze křídovité, jemnozrnné agregáty, které jsou v optickém mikroskopu většinou izotropní (Kořístková, 2004). Přesto, že má proměnlivé složení díky koncovým členům, nemá to na optické vlastnosti významný vliv, v XPL je bezbarvým minerálem bez pleochroismu (Vávra & Losos, 2013). Vzácněji tvoří větší krystaly, které mají lamelární formu s výraznými interferenčními barvami, a čočkovité formy tvořené kulovitými agregáty kryptokrystalických částic. Tyto kulovité agregáty je možné sledovat až pod elektronovými mikroskopem při zvětšení 2000x-3000x (Kořístková, 2004).

Při sialolitiáze má skupina apatitu kompaktní strukturu, která je tvořena převážně hydroxylapatitem, oktakalciumfosfátem a whitlockitem (Jin & Yip, 2002).



Obr. 3 Drobné kulovité agregáty krystalků apatitu, diagonální strukturu tvoří otisk chirurgického šicího materiálu, SEM (Kořístková, 2004, upraveno)



Obr. 4 Pseudoizotropní agregáty apatitu v polarizačním mikroskopu, stopy Whewellitu, zrnkový preparát (Kořístková, 2004, upraveno).

3.2. Struvit

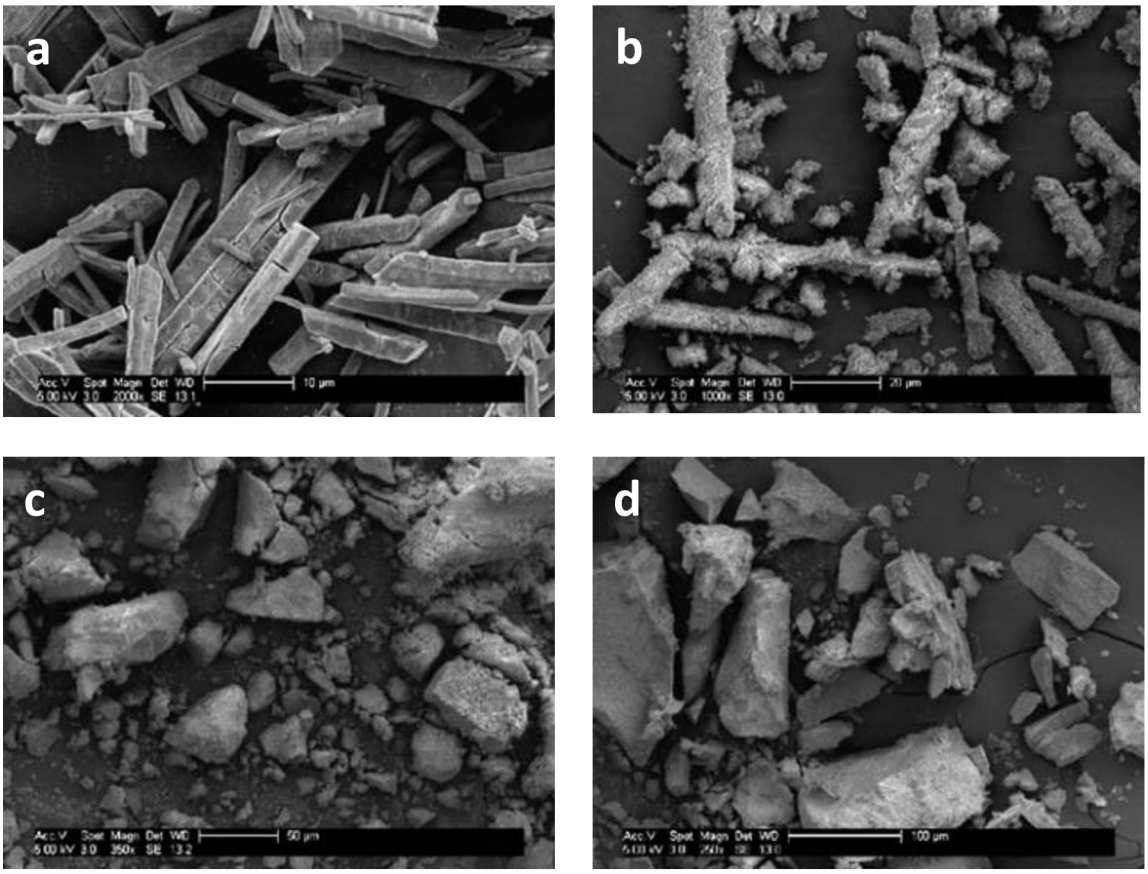
Magneziumamoniumfosfát hexahydrát má chemický vzorec $MgNH_4PO_4.6H_2O$. Molární poměr Mg, N a P ve struvitu je 1:1:1. Výskyt v organismu při urolitiáze podle Kořístkové (2004) většinou souvisí s bakteriemi, které jsou přítomny v infikované moči. Tyto bakterie (Proteus mirabilis, Proteus vulgaris, H. influenzae, Staphilococcus aureus, Ureaplasma urealyticum) produkují enzym, který katalyzuje hydrolýzu močoviny na molekulu oxidu uhličitého a dvě molekuly amoniaku.

$$(NH_2)_2CO + H_2O \longrightarrow 2NH_3 + CO_2$$

Hydrolýzou se následně mění na amoniové kationty, které alkalizují moč (zvyšují pH moči).

$$NH3 + H2O \longrightarrow NH_4^+ + OH$$

Přítomnost vápenatého iontu ovlivňuje krystalizaci struvitu (Le Corre, 2005). S rostoucím množstvím vápenatého iontu se redukuje velikost krystalu, a vede k tvorbě amorfního struvitu. Vývoj krystalů struvitu během rostoucího množství koncentrace vápenatého iontu lze vidět na obr. 5.



Obr. 5 Vliv vzrůstajícího množství iontů Ca^{+2} při formaci krystalu struvitu na morfologii krystalu a jeho kvalitu, se stálým množstvím Mg = 1,64 mmol, SEM snímky (Le Corre et al., 2005, upraveno).

Při absenci vápenatého iontu (Mg:Ca = 1:0) se vytváří dobře vyvinuté prizmatické krystaly struvitu (*a,* obr. 5). Při zvýšené koncentraci Ca (Mg:Ca = 2:1) jsou stále rozeznatelné prizmatické krystaly (*b*), jsou ale pokryté sraženinou. Při stejné a vyšší koncentraci Ca s Mg (*c*, *d*) přechází látka v amorfní fázi kalciumfosfátu (LeCorre et al., 2005).

3.2.1. Mineralogické vlastnosti struvitu

Struvit tvoří bílé konkrementy s hladkým povrchem, také bývá nacházen ve formě písku v moči nebo, nejčastěji, jako drobné odlitkové kameny (Staghorn, příloha 5). Na lomu bývá zrnitý, případně sloupcovité struktury s neohraničeným krystalizačním jádrem (Kořístková, 2004). Má ortorombickou strukturu. Často se vyskytuje se skupinou apatitu, konkrétně s karbonátapatitem či hydroxylapatitem. Je snadno rozpustný v kyselině octové a chlorovodíkové, naopak nerozpustný v roztocích hydroxidů či při zahřívání. Syntéza struvitu in vitro je možná již při pH 6, nicméně má jinou morfologii krystalů, než konkrement krystalizovaný při vyšším pH (Rodman, 1998).

Obr. 3 Bílé krystaly struvitu s hladkým povrchem, a neohraničeným jádrem.

Obr. 4 Nábrus struvitového kamene s detailem na neohraničené jádro.

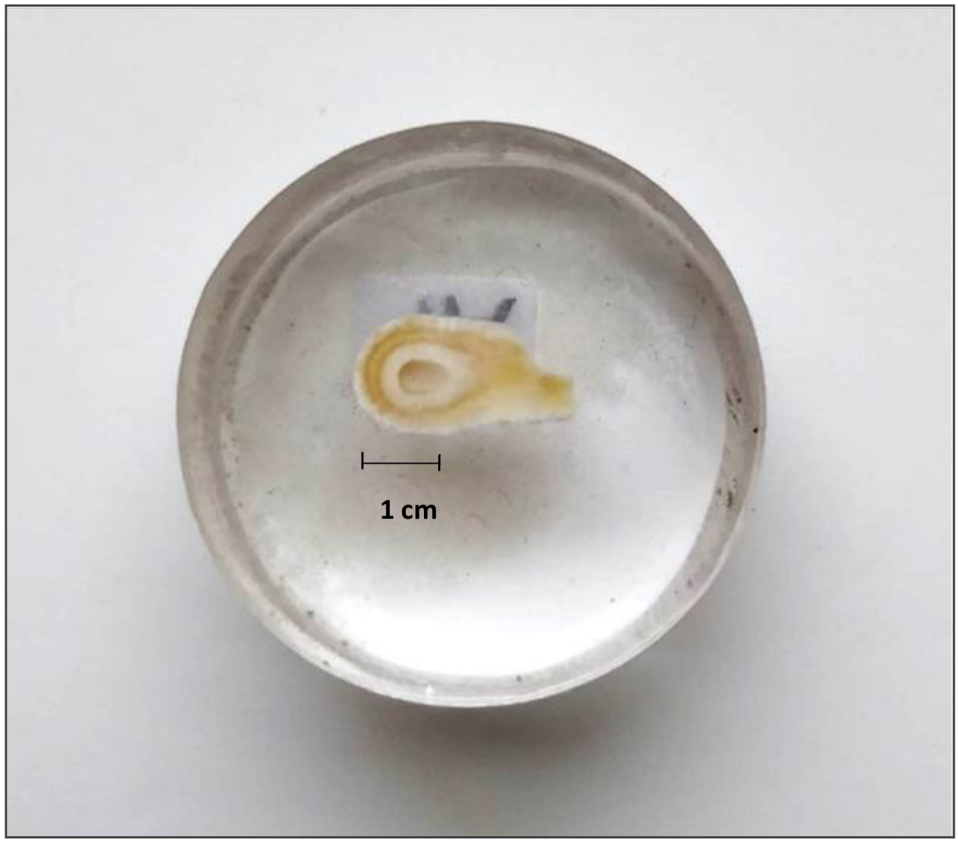
Častá je možná mikroskopická záměna drobných krystalů se šťavelanem (oxalátem) vápenatým (Michalec, 1998). Pro rozpoznání aniontové skupiny se využívá tenkovrstvé chromatografie. Podrobný postup popsal Michalec (1988).

4. Metodika

Vzorky močových konkrementů poskytla RNDr. Tamara Kořistková z laboratoře AeskuLab. Z těchto vzorků byly v brusírně ÚGV zhotoveny tablety. Bodové analýzy byly provedeny na elektronovém skenovacím mikroskopu JEOL 6490LV vybaveným EDX mikroanalyzátorem INCAx-act (Oxford Instruments). Doba načítání spektra činila 75 s při urychlovacím napětí 15 kV. Vzhledem k tomu, že povrch vzorku nemohl být vakuově napařen uhlíkovou vrstvou, byly vzorky analyzovány v nízkém vakuu v režimu zpětně odražených elektronů (BSE).

5. Výsledky

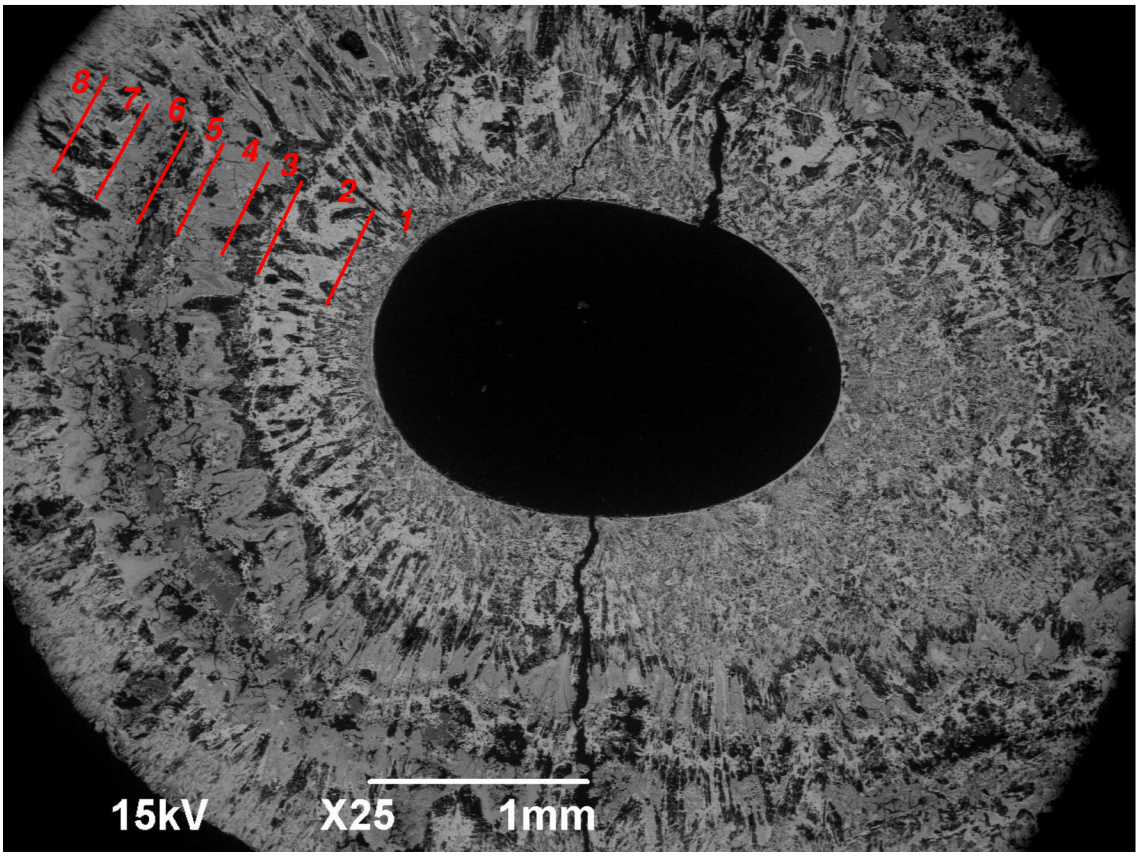
Analyzovaným vzorkem je konkrement pocházející z močového traktu. Konkrement obsahuje fosfátovou složku. Důraz je kladen na růstovou stavbu konkrementu, a jeho složení díky bodovým analýzám z elektronového mikroskopu. Vzhledem k různým morfologiím apatitu v konkrementu je možné následné srovnání složení jednotlivých zón (graf 2).



Obr. 6 Snímek průřezu konkrementu, tableta.

Jedná se o hladký až jemně hrbolatý, kompaktní, lehce protažený kulovitý agregát nepravidelného tvaru o rozměrech 2x0,5x05 cm. Vzorek je zpracovaný do tablety (obr. 6). Barva na povrchu konkrementu je světle béžová. Zabarvení se mezi zónou centrální a periferii liší, zatímco na okraji vzorku a u jeho centra je barva světlá, v mezizóně je tmavší. Na průřezu je zřetelné vrstvení kolem centra, pravděpodobně krystalizačního jádra, které však při analýze chybí. Konkrement byl dutý, během zpracování vzorku byla dutina zalitá epoxidem.

Na snímku z elektronového mikroskopu (obr. 7) je viditelných několik růstových struktur, které jsou dobře patrné na levé straně vzorku. Na pravé straně tato stavba není tak zřetelně vyvinuta. Růstové struktury jsem rozdělila do třech základních zón podle vzdálenosti od jádra. Jedná se o centrální zónu, mezizónu a periferii. Tyto zóny jsou následně rozděleny na vrstvy dle různé morfologie krystalů. Jednotlivé vrstvy jsou odlišeny a označeny čísly *1-8*.

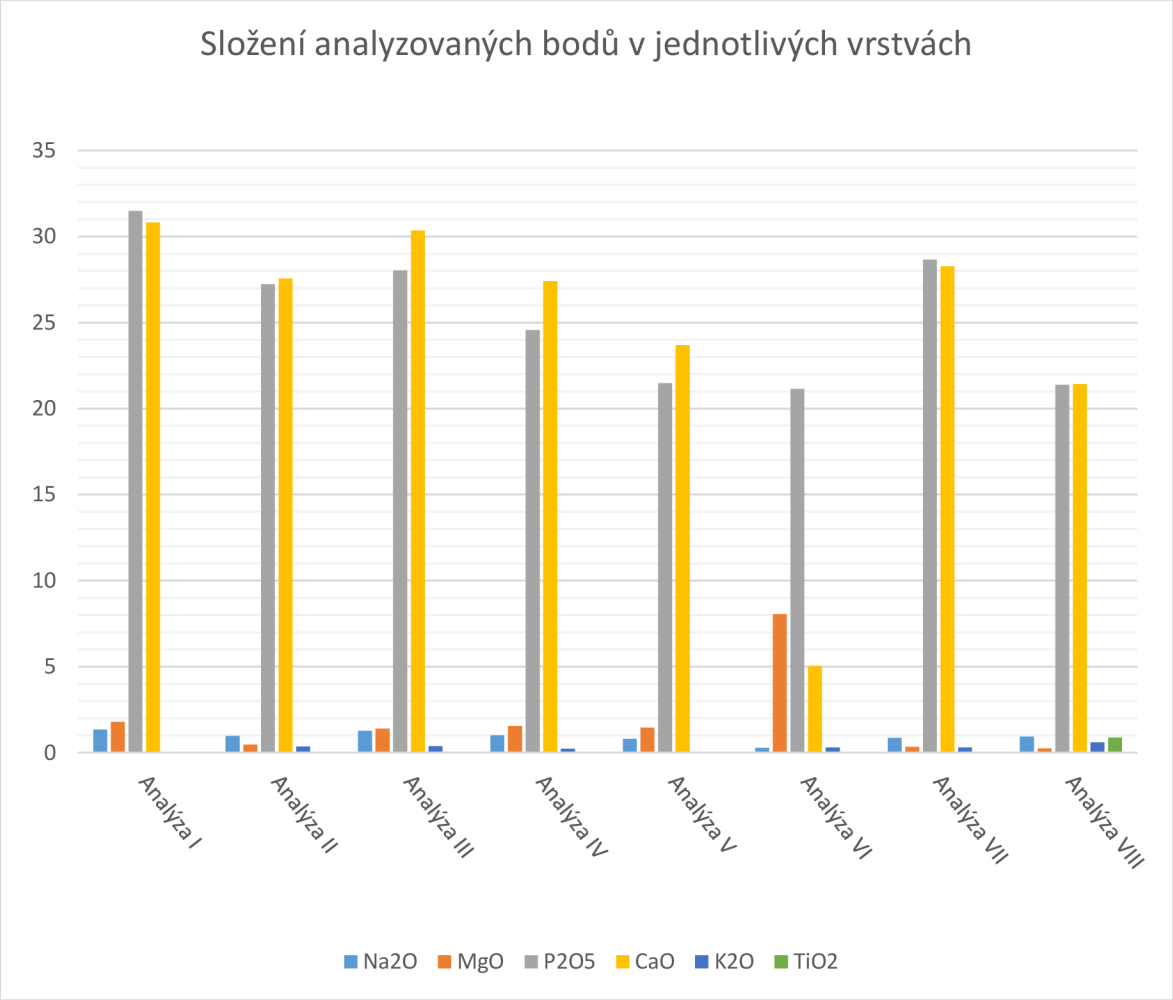


Obr. 7 SEM snímek močového konkrementu s vrstvami označenými červenou barvou s čísly *1-8*. Vrstvy byly rozděleny do třech základních zón – vrstvy *1-2* – centrální zóna, *3-6* – mezizóna, *7-8* – periferie.

Vrstvy jsou rozlišeny na základě různé morfologie zrn a agregátů kalciumfosfátu (apatitu). Pozorované stavby jsou velmi pestré. Vyskytují se zde jehlice s téměř radiálně paprsčitou stavbou i s chaotickým uspořádáním, kulovité útvary nebo masivní apatitové stavby. Podrobněji se strukturám věnuji v kapitolách věnovaným jednotlivým vrstvám.

5.1. Chemismus

Na vzorku (obr. 6, obr. 7) byly provedeny analýzy, znázorněné v grafu 2. Analýzy ukazují na prominující obsah oxidů P_2O_5 a CaO ve všech vrstvách. Hodnoty oxidů P_2O_5 a CaO jsou poměrně vyrovnané.

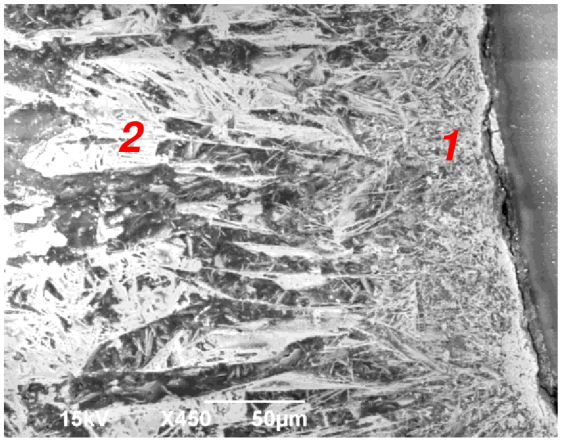


Graf 2 Srovnání složení konkrementu z bodové analýzy elektronového mikroskopu

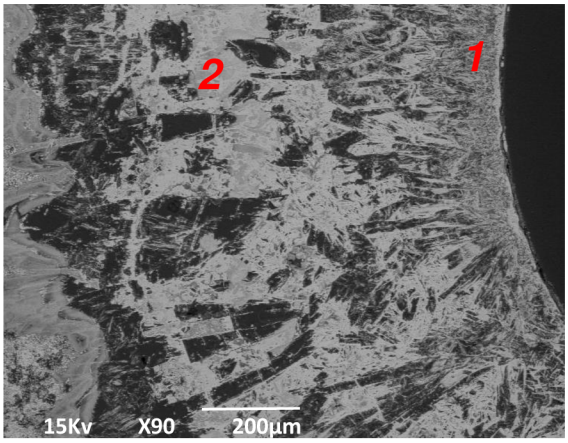
Ve vrstvě *5* je vysoký obsah Mg a P, který naznačuje, že se jedná o minerál struvit. Směrem k periferii konkrementu (vrstva *6*, *7*; analýza VII, VIII) je však obsah Mg opět nízký, jak tomu bylo u jeho centrální části.

5.2. *Centrální zóna*

Poloha nejblíž centra (*1*) je jemnozrnná, s velmi malými, orientovanými jehlicemi apatitu (obr. 8). Jehlice mají velikost od 10 µm. Směrem k periferii se jehlice mění na větší, tabulkovité, krystaly (*2*). S větší vzdáleností od jádra se velikost tabulkovitých krystalů zvětšuje (obr. 9). Odraznost se v centrální zóně liší, vrstva *1* s malými jehlicemi má nižší odraznost, a je proto tmavě šedá, tabulkovité krystaly jsou díky vyšší odraznosti (obr. 8) bílé.



Obr. 8 Detail konkrementu u báze.



Obr. 9 Pohled na tabulkovité krystaly.

Tab. 1 Bodové analýzy centrální části konkrementu, hodnoty v %

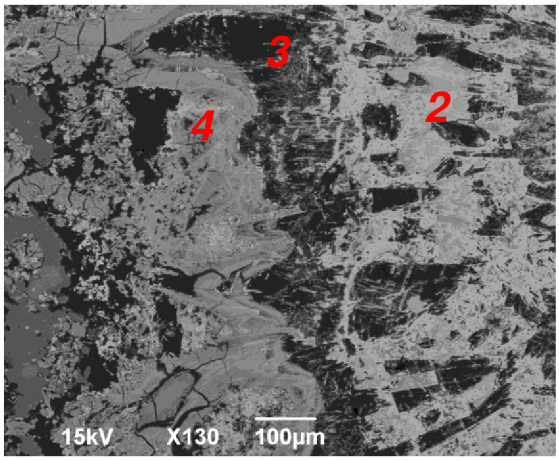
	Na_2O	MgO	P_2O_5	CaO	K_2O
Analýza I	1,34	1,78	31,49	30,81	x
Analýza II	0,97	0,47	27,22	27,56	0,35
Analýza III	1,26	1,39	28,02	30,34	0,37

Složením jsou si obě struktury podobné, dle analýzy (graf 1) se jedná o fosfát s CaO, odpovídající apatitové skupině. V analýze nebyl zjištěný F, který by upřesňoval složení fluorapatitu. Na jehlicovitých krystalech ve vrstvě *1* byly provedeny dvě analýzy. V analýze I byl změřen nejvyšší obsah CaO (30,81 %) i P_2O_5 (31,49 %) v celém konkrementu (tab. 1). Suma procent v případě analýzy I je ~ 65 %. Zbytek může tvořit např. H_2O či CO_2, jehož koncentrace by poukazovala na přítomnost karbonátapatitu či hydroxylapatitu. V případě analýzy II je suma

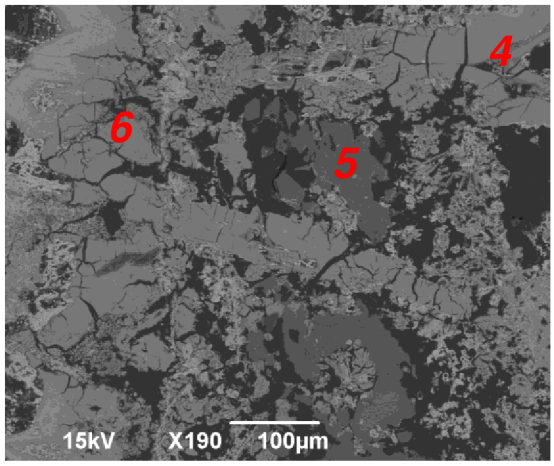
hodnot ~ 56,5 %. Na tabulkovitých krystalech byla provedena analýza III. Složením odpovídá jehlicovitým krystalům.

5.3. *Mezizóna*

Mezizónu tvoří vrstvy *3* až *6*. Vrstva *3* (obr. 10) je vysoce porézní, tmavá zóna. Jehlice se vyskytují pouze sporadicky, volně přechází z vrstvy *2*. Na tuto tmavou zónu nasedá vrstva šedá (*4*). Jedná se o vrstvu masivního zonálního apatitu. Z této vrstvy vyrůstají dlouhé, sloupečkovité krystaly apatitu, které prorůstají následující vrstvou *5* až do zóny *6* (obr. 11). Vlastní vrstvu *5* tvoří agregáty, které jsou vzhledem k vysokému obsahu Mg klasifikovány jako struvit (analýza VI). Apatit zde tvoří vzácně dlouhé krystaly, jinak ale malé útvary.



Obr. 10 Detail vrstev 1,2,3 a 4.



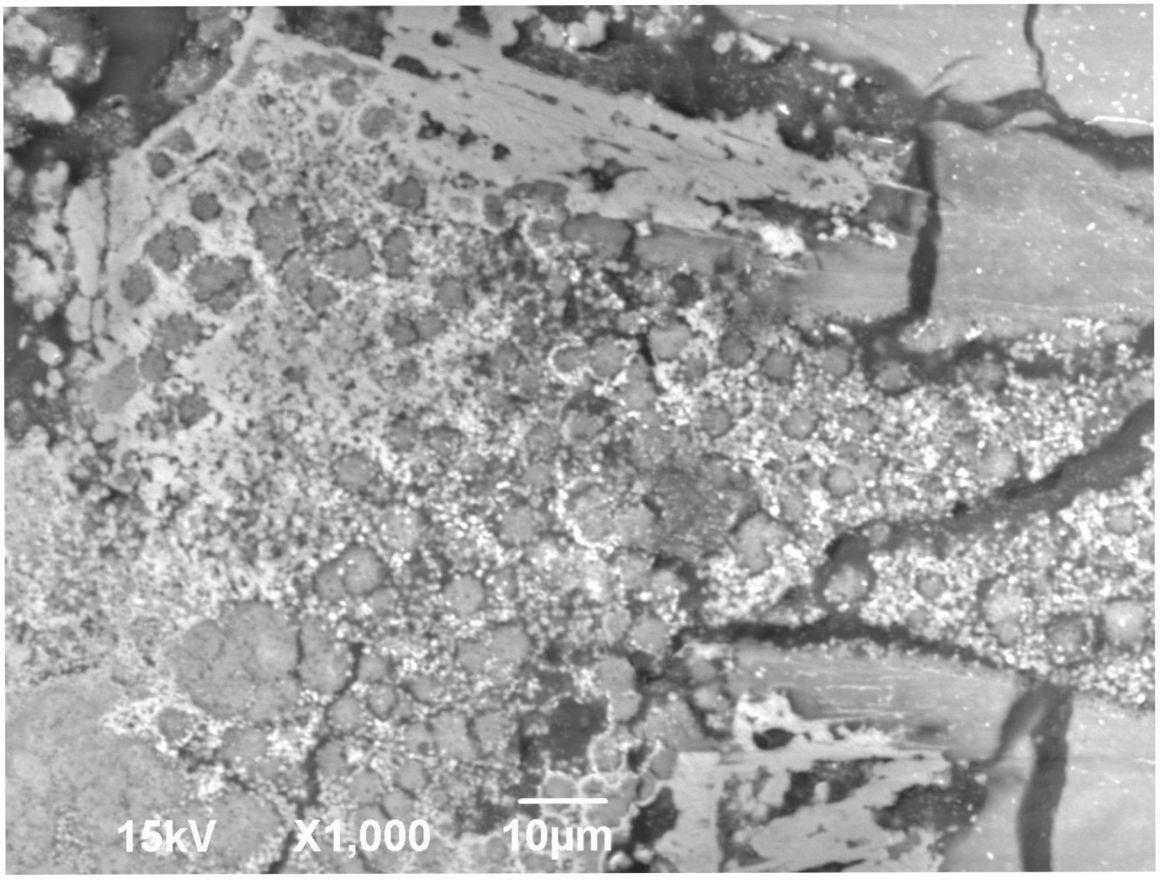
Obr. 11 Detail „apatitového můstku“.

Tab. 2 Bodové analýzy v mezizóně konkrementu, vrstvy 4 a 5, hodnoty v %

	Na_2O	MgO	P_2O_5	CaO	K_2O
Analýza IV	1,01	1,55	24,57	27,41	0,22
Analýza V	0,8	1,45	21,48	23,7	X
Analýza VI	0,29	8,06	21,14	5,05	0,3

Vrstvu *4* tvoří struktura, která lemuje předchozí vrstvu (obr. 10). Složením (analýza IV, tab. 2) odpovídá apatitu, díky vysokému obsahu P_2O_5 (24,57 %) a CaO (27,41 %). Podobnému složení odpovídá apatitový sloupečkovitý krystal, na kterém byla provedena analýza V. Na stejné

vrstvě byla provedena také analýza VI, která poukázala na výskyt struvitu. V porovnání s ostatními vrstvami má nižší hladinu koncentrací CaO (5,05 %), za to vyšší obsah MgO (8,06 %).

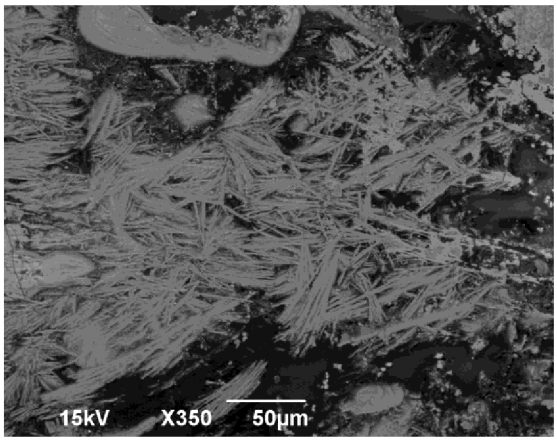


Obr. 12 kulovité agregáty apatitu, vrstva 6

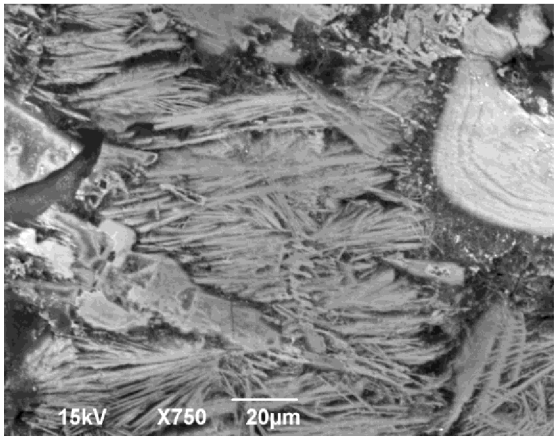
Ve vrstvě *6* se kromě masivních apatitů nacházejí i malé kuličky ve velikosti 5 μm a menší (obr. 12). Ty se nacházejí hned za apatitovým můstkem (masivním zonálním apatitem).

5.4. Periferie

Na periferii konkrementu dochází k další změně ve způsobu krystalizace. Součástí periferie jsou zóny *7* a *8*. V obou zónách jsou vyvinuté jehlice apatitu, které však mají odlišnou stavbu.

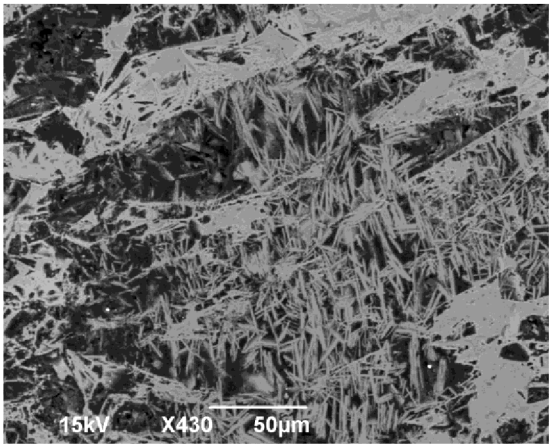


Obr. 13 vrstva *7*, radiálně paprsčité jehlice

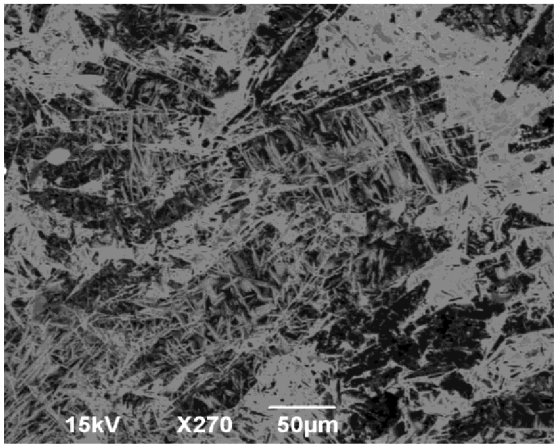


Obr. 14 vrstva *7*, jehlice

Ve vrstvě *7* se nacházejí dlouhé jehlice v délce ±50 µm a menší. Tyto jehlice mají téměř radiálně paprsčitou stavbu (obr. 13). Tato vrstva tvoří tenký přechod mezi vrstvami *6*, tvořenou masivním apatitem, a *8*, která je tvořená neorientovanými jehlicemi apatitu s chaotickým uspořádáním.



Obr. 15 jehlice, vrstva *8*



Obr. 16 chaoticky uspořádané jehlice

Na okrajové zóně byly provedeny dvě bodové analýzy. Analýza VII s vysokým obsahem P_2O_5 (28,65 %) a CaO (28,27 %) prokazuje, že jehlice z vrstvy *7* jsou tvořeny minerálem apatitem.

Tab. 3 Bodová analýza dvou vrstev na periferii, hodnoty udány v %

	Na_2O	MgO	P_2O_5	CaO	K_2O	TiO_2
Analýza VII	0,86	0,34	28,65	28,27	0,31	x
Analýza VIII	0,94	0,25	21,39	21,42	0,59	0,88

Stejně tak jehlice, které jsou uspořádány chaoticky (analýza VIII), a mají obsah P_2O_5 (21,39 %) a CaO (21,42 %). V této analýze byl zjištěn menší obsah TiO_2 (0,88 %), což je nepravděpodobněji způsobeno kontaminací vzorku brusivem při zpracování konkrementu.

6. Diskuze a interpretace

6.1. Vnitřní stavba konkrementu

Praskliny v konkrementu vznikly dehydratací, pravděpodobně až po vyjmutí z vodného prostředí v lidském těle. Změna odraznosti je způsobená nejpravděpodobněji různým stupněm hydratace daného vzorku, případně mikroporozitou. Růst konkrementu je, vzhledem ke zřetelnému vrstvení, dynamický. Vrstvy se ukládaly postupně, dle podmínek okolí a vlivem různých faktorů. Jádro ve vzorku chybí, nicméně je zřetelné, že konkrement měl krystalizační centrum, kolem kterého se ukládaly další vrstvy. Dutina byla zalitá epoxidem během úpravy vzorku.

6.2. Chemické složení vrstev

Hodnoty bodové analýzy jsou uváděny v procentech jednotlivých oxidů zastoupených ve vzorku. Prováděné analýzy na konkrementu potvrdily minerál apatit, ze kterého jsou složeny téměř všechny vrstvy. Tyto vrstvy však mají různou morfologii krystalů. Různé morfologie vrstev je zřetelně vidět na obr. 7, kde jsou pro větší přehlednost odlišeny červenými čísly. Ve vrstvě *7* (analýza VI) byl kromě apatitu detekován vysoký obsah MgO, který značí minerál struvit. Ani v jednom bodě nebyl detekován F, který by naznačoval, že se jedná o minerál fluorapatit. Nejzastoupenějším oxidem v konkrementu je P_2O_5. Na základě jeho vysokým koncentracím je možné zařadit konkrement mezi fosfáty. Rozmezí hodnot P_2O_5 je 21,14 %-31,49 %. Významnou složkou je také CaO, jehož rozsah hodnot je 21,42 %-30,81 % v případě apatitu, ve struvitu je jeho hodnota nízká, dosahuje hodnoty 5,05 %. Obsah minoritní složky Na_2O se pohybuje v rozmezí od 0,29 % v analýze VI po 1,34 % v analýze I. Tato složka je však obsažená ve všech prováděných analýzách konkrementu. Další minoritní složkou detekovanou v konkrementu je K_2O, jejíž rozmezí hodnot je od 0,22 % v analýze IV po 0,59 % v analýze VIII. V analýze V (vrstva *5*) tato složka chybí. V analýze VIII byla detekována nízká koncentrace oxidu TiO_2, jehož přítomnost nelze brát v úvahu. Tato fáze byla pravděpodobně přidána při zpracování vzorku, nejpravděpodobněji se jedná o kontaminaci vzorku brusivem.

6.3. Vliv pH na vnitřní stavbu

Konkrement má zřetelné růstové stavby kolem krystalizačního centra. Jádro ve vzorku chybí. Jádro konkrementu mohlo být jiného složení, než zbytek konkrementu. Byly dokumentovány

případy, kdy bylo jádro složeno např. z oxalátů či kyseliny močové, ačkoliv se jednalo o fosfátový konkrement (Prien et al., 1947). Kyselina močová se tvoří především v kyselé a neutrální moči, v zásaditém roztoku se rozpouští. Minerál struvit vzniká v moči alkalické. Apatitová skupina se tvoří v moči zásadité (alkalické) a neutrální (Michalec, 1988). Přehled rozpustností je uveden v příloze 6. Právě změna pH prostředí (alkalizace) mohlo být důvodem, proč krystalizační jádro vymizelo. Potvrzení této hypotézy je i fakt, že se v konkrementu vyskytuje minerál struvit (vrstva 5). Nejčastější formou apatitu v konkrementu jsou jehlice, vyskytující se však v různých velikostech. Zajímavé je, že se vyskytují ve vrstvách *1* a *2*, tedy nejblíže centra, a dále ve vrstvách *7* a *8*, které jsou naopak přiřazeny k periferii konkrementu. Studie Ibsena et al. (2018) prokazuje, že tvar a velikost nanokrystalů apatitu závisí na pH výchozích látek, a také na tom, zda se použijí sodné nebo draselné soli jako prekurzory. V případě draselného prekurzoru mají krystaly apatitu tvar dlouhých jehel. Tento tvar odpovídá vrstvám u centra konkrementu. Naopak při vyšším pH vykazovaly krystaly téměř sférickou geometrii a byly méně anizotropní (Ibsen, 2018). Krystaly s tvarem jehlic se sférickou geometrií vidíme na periferii konkrementu, konkrétně ve vrstvách *7* a *8*, ve kterých je předpokládaná vyšší hodnota pH vzhledem k přítomnosti struvitu. Vliv na morfologii krystalů apatitu má také pyrofosfát. Ve vrstvě *6* se vyskytuje struktura se složením apatitu, která připomíná kulovité krystaly. Podle srovnání s podobnou strukturou, kterou popsala Kořístková (2004), se může jednat o kulovité agregáty kryptokrystalických částic se složením apatitu. Podobné struktury popsal také Sokol et al. (2005), či Leichmann et al. (2012), jejich vznik popsal Amos et al. (2009). Podle něj je růst těchto agregátů podmíněn amorfními fosfáty.

7. Závěr

V konkrementech se mohou nacházet krystaly apatitu v různých morfologiích, tvarech a velikostech, a to na základě změny pH, případně vlivem minoritních fází, jako sodík či draslík, které mohou ovlivňovat růst krystalu. V rámci jednoho studovaného konkrementu lze najít apatit ve formě jehlic s radiálně paprsčitou symetrií nebo s chaotickým uspořádáním, tabulkovité krystaly či kulovité agregáty. Přítomnost struvitu, který krystalizuje za jiných pH podmínek než apatit, může signalizovat vzájemný vliv mezi minerály. Tento vztah se projevuje i na analyzovaném vzorku.

Studovaným vzorkem je konkrement pocházející z močového traktu. Na vzorku močového konkrementu bylo provedeno studium pomocí elektronového skenovacího mikroskopu (SEM). Konkrement je zřetelně vrstevnatý, vyčlenila jsem osm základních vrstev, které byly rozděleny pro lepší přehlednost dle morfologie do třech základních zón nazvané centrální zóna, mezizóna a periferie. Ve vrstvách jsem provedla osm bodových analýz. Z těchto bodových analýz vyplývá, že se jedná o fosfátový konkrement, s příměsí struvitu. Konkrement měl jádro, kolem něhož se začaly postupně formovat při různém chemismu následující vrstvy. Jádro však již při zpracování konkrementu chybělo. Možným důvodem je rozpuštění jádra z kyseliny močové procesem zvaným alkalizace (zvýšení pH roztoku). V konkrementu byly rozpoznány různé morfologie apatitu, které mohou být také důsledkem změny pH, případně vlivem struvitu na apatit.

8. Seznam literatury

Amos, F. A., Dai, L., Kumar, R., Khan, S. R. & Gower, L. B. (2009): Mechanism of formation of concentrically laminated spherules: implication to Randall's plaque and stone formation. Urological Research, 37, *11-17*.

Canvasser, N. E., Alken, P., Lipkin, M., Nakada, S. Y., Sodha, H. S., Tepeler, A., & Lotan, Y. (2017): The economics of stone disease. World Journal of Urology, 35(9), *1321–1329*

Dubanský, A. & kol. (1994): Rozbory močových konkrementů. – Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví v Brně. Brno.

Gokce, M. I., Tokatli, Z., Suer, E., Hajiyev, P., Akinci, A., & Esen, B. (2016): Comparison of shock wave lithotripsy (SWL) and retrograde intrarenal surgery (RIRS) for treatment of stone disease in horseshoe kidney patients. International Brazilian Journal of Urology, 42(1).

Griffith, D. P. (1978): Struvite stones. Kidney International, 13(5), *372–382*.

Ibsen, C. J. S. & Birkedal, H. (2018): Pyrophosphate- Inhibition of Apatite Formation Studied by In Situ X-ray Diffraction, 8(2), *65*.

Ivanova, T. I., Frank-Kamenetskaya, O. V., Kol'tsov, A. B. & Ugolkov, V. L. (2001): Crystal structure of calcium-deficient carbonated hydroxyapatite. Thermal decomposition. Journal of Solid State Chemistry, 160, *340-349.*

Jin, Y., & Yip, H. K. (2002): Supragingival Calculus: Formation and Control. Critical Reviews in Oral Biology & Medicine, 13(5), *426–441*.

Kaude, J., Williams, C., Millner, M., Scott, K., & Finlayson, B. (1985): Renal morphology and function immediately after extracorporeal shock-wave lithotripsy. American Journal of Roentgenology, 145(2), *305–313*.

Knoedler, J. & Krambeck, A. (2015): Jak na perkutánní nefrolitotomii. Urologické listy, 13(2), *17-21*.

Kořístková, T. (2004): Materiál/Druhy močových konkrementů. Online: http://www.calculi.cz/material.php, 15. 4. 2019.

Křížek, V. (1981): Cystinurie a cystinová urolitiáza. – Avicenum. Praha.

Le Corre, K. S., Valsami-Jones, E., Hobbs, P., & Parsons, S. A. (2005): Impact of calcium on struvite crystal size, shape and purity. Journal of Crystal Growth, 283(3-4), *514–522*.

Leichmann J., Kořistková T., Zeman J. & Pacík D. (2012): Microstructual analysis of urinary stone as evidence of experimentally observed processes of their formation. Urological Research. 40(6), *791-792*.

Markovská N. & Ďurovič, E. (1991): Zubný mikrobiálny povlak. – Rektorát Univerzity P. J. Šafárika v Košiciach. Košice.

Michalec, Č. (1988): Močový sediment a močové konkrementy. – Avicenum. Praha.

Petránek, J. (2007): Fosfáty. – Geologická encyklopedie. Online: http://www.geology.cz/aplikace/encyklopedie/term.pl?fosfaty, 15. 4. 2019.

Preminger, G., Assimos, D., Lingeman, J., Nakada, S., Pearle, M., & Wolf Jr., J. (2005): Chapter 1: Aua guideline on management of staghorn calculi: diagnosis and treatment recommendations. The Journal of Urology, 173(6), *1991–2000*.

Prien, E. L. & Frondel, C. (1947): Studies in Urolithiasis: I. The Composition of Urinary Calculi. The Journal of Urology, 57(6), *949–991*.

Rodman, J. (1998): Struvite stones. Nephron, 81(1), *50-59.*

Shi, J., Klocke, A., Zhang, M., & Bismayer, U. (2003): Thermal behavior of dental enamel and geologic apatite: An infrared spectroscopic study. American Mineralogist, 88(11-12), *1866–1871*.

Silbernagl, S. & Despopoulos, A (1993): Atlas fyziologie člověka. – Grada Avicenum. Praha.

Sokol E., Nigmatulina E., Maksimova N., & Chiglintsev A. (2005): CaC2O4·H2O spherulites in human kidney stones: Morphology, chemical composition, and growth regime. European Journal Of Mineralogy, 17(2), *285-295*.

Součková, I. (2019): Aplikace petrologicko-mineralogických metod při studiu litiázy v lidském těle. – MS: rešerše k bakalářské práci, Ústav geologických věd, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Brno.

Stejskal, D. (2007): Urolitiáza. – Grada. Praha.

Sundberg, M. & Friskopp, J. (1985): Crystallography of supragingival and subgingival human dental calculus. European Journal of Oral Sciences, 93(1), *30-38.*

Škach, M. & Kostlán, J. (1973): Onemocnění parodontu. – Avicenum. Praha.

Uvarov, V. et al. (2011): X-ray diffraction and SEM study of kidney stones in Israel: quantitative analysis, crystallite size determination, and statistical characterization. Enviromental Geochemistry and Health. 33(6), *613-622*.

Vávra V. & Losos Z. (2013): Fosfáty, arzenáty, vanadáty, wolframáty, molybdáty. Multimediální studijní texty z mineralogie pro bakalářské studium. On-line: http://www.sci.muni.cz/mineralogie/index.htm, 10. 4. 2019.

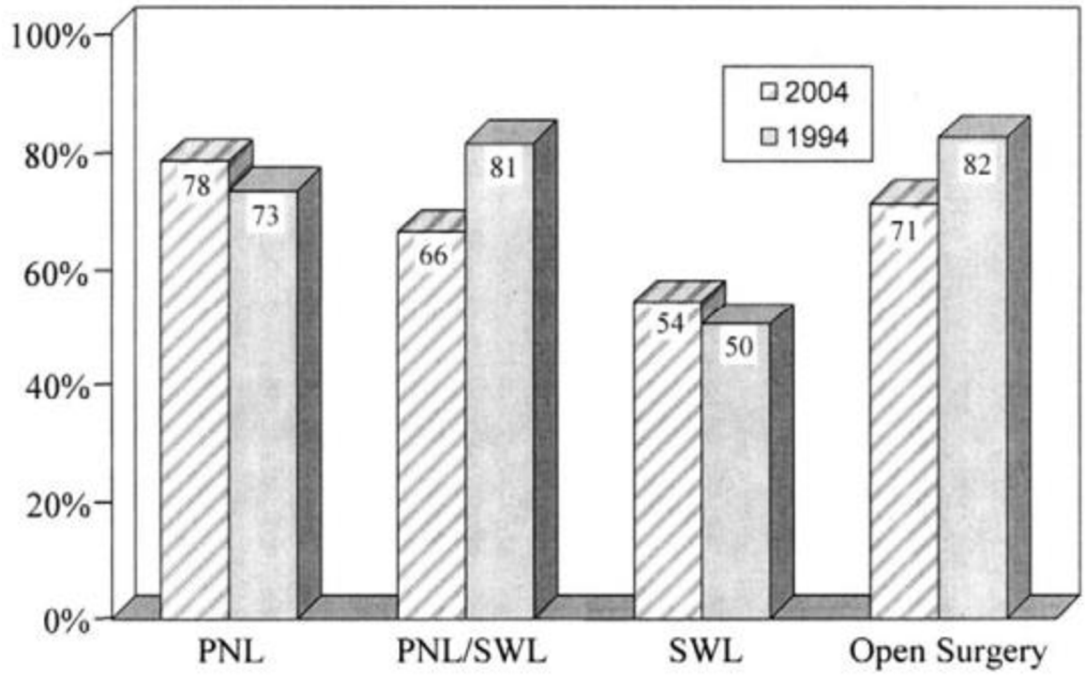
Wenk, H. R. & Bulakh, A. (2004): Minerals: Their Constitution and Origin. – Cambridge. New York

9. Seznam zkratek

AHA	kyselina acetohydroxamová
AP	apatit
BSE	zpětně odražené elektrony (backscattered electron)
Ca	vápník
F	fluor
Mg	hořčík
N	dusík
PCNL/PNL	perkutánní nefrolitotomie
RIRS	retrográdní intrarenální operace
SEM	skenovací elektronový mikroskop
ST	struvit
SWL	extrakorporální litotrypse rázovou vlnou

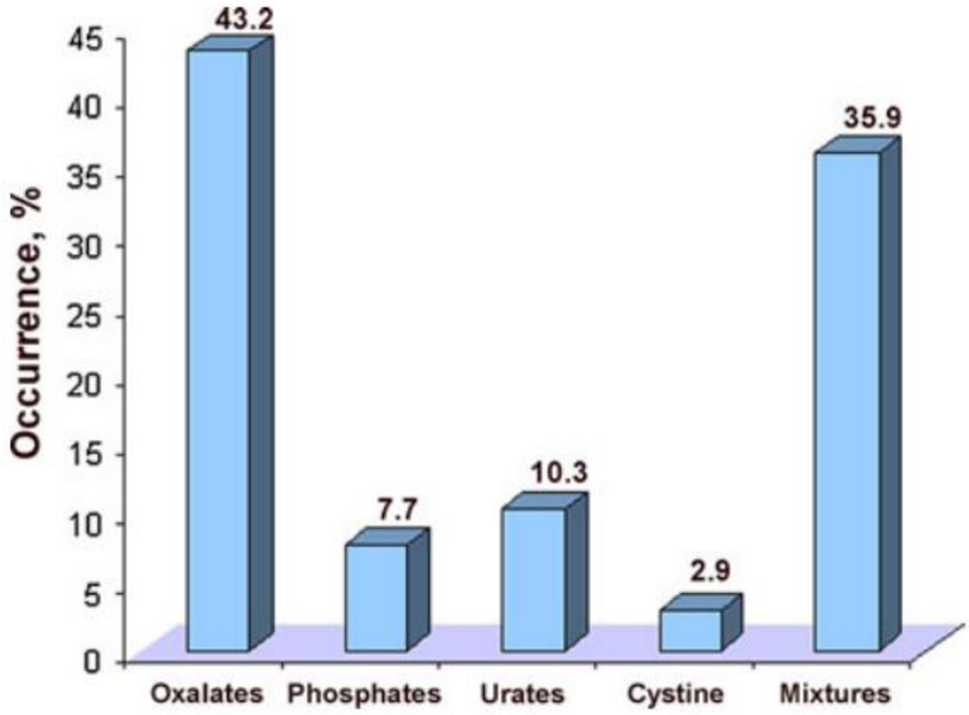
10. Přílohy

Příloha 1 Operativní výkony vykonané pro destrukci konkrementů v letech 1994 a 2004, a jejich procentuální zastoupení (Preminger et al., 2005)

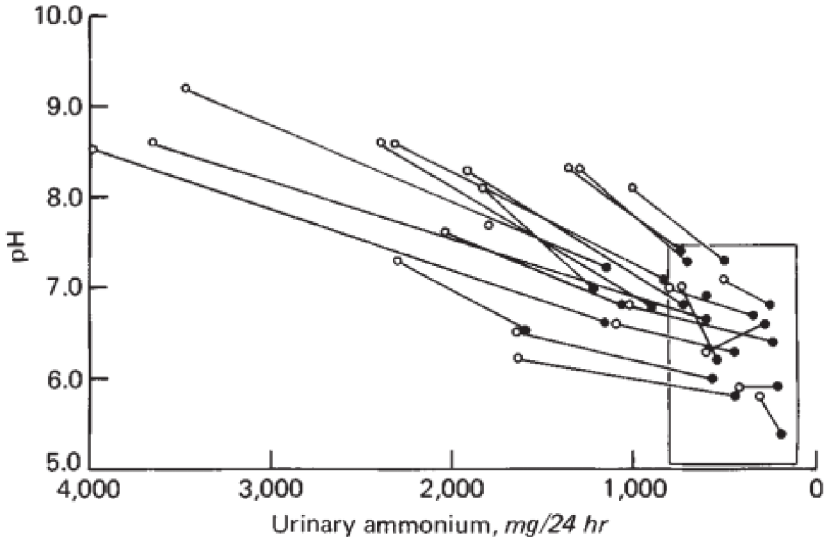


Stone-free rates: 2004 Guideline versus 1994 Guideline

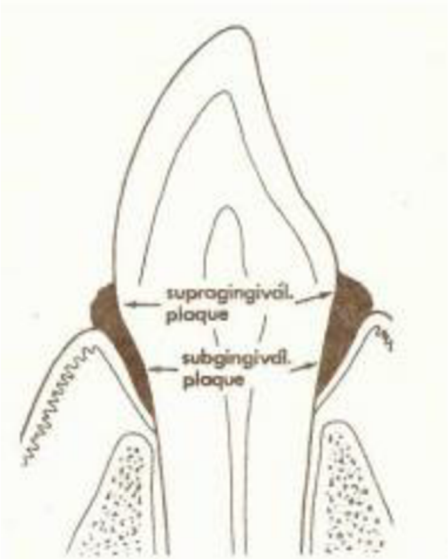
Příloha 2 Výskyt jednotlivých chemických skupin konkrementů v případě ledvinových kamenů získaných z Izraele. (Uvarov 2011)



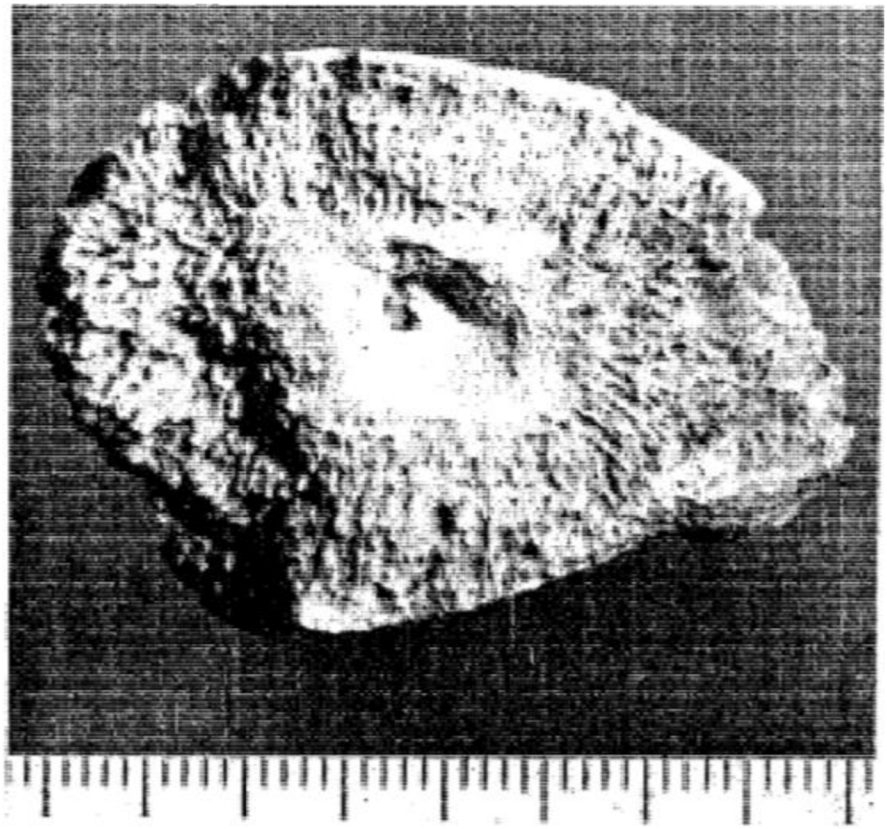
Příloha 3 Změny v pH moči během dlouhodobé terapie léčivem AHA u 23 pacientů (Prien et al., 1947)



Příloha 4 Lokalizace subgingiválního a supragingiválního zubního kamene, převzato od Markovské et al., 1991



Příloha 5 Fosfátový konkrement typu Staghorn (Prien et al., 1947)



Příloha 6 Rozpustnost složek neorgánového sedimentu – vliv fyzikálních a chemických faktorů (převzato od Michalce, 1988)

Složka	Reakce moči		Zahřátí	Zásady	Anorganické kyseliny	Kyselina octová	96% 1 ethanol
	Kyselá	Zásaditá					
Kyselina močová	+	-	Rozpustná	Rozpustná	Nerozpustná	Nerozpustná	Nerozpustná
Močany	+	-	Rozpustné	Rozpustné	Nerozpustné	Nerozpustné	Nerozpustné
Fosforečnan vápenatý	+	-	Nerozpustný	Nerozpustný	Rozpustný	Rozpustný	Nerozpustný
Síran vápenatý	+	-	Nerozpustný	Nerozpustný	Málo rozpustný	Nerozpustný	Nerozpustný
Kyselina hipurová	+	-	Rozpustná	Rozpustná	Nerozpustná	Nerozpustná	Rozpustná
Kyselý močan amonný	-	+	Rozpustný	Rozpustný	Rozpustný	Rozpustný	Nerozpustný
Amorfní fosforečnany alkalických zemin	-	+	Nerozpustné	Nerozpustné	Rozpustné	Rozpustné	Nerozpustné
Fosforečnan amonnohořečnatý	-	+	Nerozpustný	Nerozpustný	Rozpustný	Rozpustný	Nerozpustný
Neutrální fosforečnan hořečnatý	-	+	Nerozpustný	Nerozpustný	Rozpustný	Rozpustný	Nerozpustný
Uhličitan vápenatý	-	+	Nerozpustný	Nerozpustný	Rozpustný	Rozpustný	rozpustný
Šťavelan vápenatý	-	+	Nerozpustný	Nerozpustný	Rozpustný	Nerozpustný	Nerozpustný