

Uloga glikozaminoglikana procesu stvaranja bubrežnih i/ili mokraćnih kamenaca

Vatroslav Šerić¹, Maja Sikirić², Antun Tucak³, Vesna Babić-Ivančić^{2,3}

Klinika za neurologiju, Opća bolnica "Sveti Duh", Zagreb

¹Odjel za medicinsku biokemiju, Klinička bolnica Osijek, Osijek,

²Institut "Ruđer Bošković", Zagreb, Hrvatska

³Medicinski fakultet Osijek, Osijek,

Stručni članak

UDK 616.613-003.7-02:547.918

Prispjelo: 25. rujna 2008.

Ispitivana je uloga glikozaminoglikana na proces nastajanja bubrežnih kamenaca u kalcijskoj urolitijazi zbog kontradiktornih literaturnih podataka o njihovoj ulozi u ovom procesu (promotori ili inhibitori). Postavljeni su i čimbenici rizika za razvoj urolitijaze koji bi mogli diskriminirati stvaratelje kamenaca od zdravih osoba.

Ispitivanu skupinu činile su osobe oba spola s kalcijским kamencima. U prvom jutarnjem urinu određivana je koncentracija ukupnih glikozaminglikana koja je izražena na gram izlučenog kreatinima u urinu.

Dobiveni rezultati pokazali su statistički značajno niže vrijednosti ukupnih glikozaminglikana u odnosu na kontrolnu skupinu, što ukazuje na njihovu moguću inhibitornu ulogu. Bolja diskriminacija među skupinama postignuta je ako je koncentracija glikozaminoglikana prikazana u obliku (Baggio) indeksa.

Ključne riječi: bubrežni kamenci, mokraćni kamenci, urolitijaza, glikozaminoglikani

UVOD

Urolitijaza, bolest mokraćnih kamenaca, predstavlja patološko stanje kod kojeg dolazi do stvaranja kamenaca u različitim dijelovima bubrega i mokraćnog mjehura. Prolazak kamena kroz bubrežne kanaliće uzrokuje bubrežne kolike, praćene žestokom boli što je česti razlog hospitalizaciji osoba s takvim poteškoćama [37]. Stvaranje bubrežnih kamenaca predstavlja specifični oblik biomineralizacije, kompleksnog procesa koji rezultira taloženjem anorganskih soli iz kompleksne otopine, urina, unutar organske matrice. Procesima biomineralizacije formiraju se zubi, kosti, ali i patološka mineralizirana tkiva kao što su kamenci i karijes [7]. Iako postoje bubrežni kamenci različitih etiologija, zajednička im je karakteristika da nastaju kristalizacijom iz urina, prezasićenog s obzirom na jednu ili više teško topljivih komponenti [9]. Stoga glavni problem koji se postavlja nije kako dolazi do kristalizacije, već zbog čega se u osoba s recidivirajućom urolitijazom kristali, odnosno kristalni agregati, zadržavaju u tkivu bubrega i formiraju niduse, centre rasta budućeg kamena. Kalcij-oksalatni kamenci mogu nastati zbog različitih metaboličkih poremećaja kao što su hiperkalcemija, hipocitaturija, hiperoksalurija ili promjena u kiselosti urina. Katkad sadrže i određenu količinu fosfata u obliku hidroksiapatita. Kamenci također mogu biti kalcij fosfatni, uratni (najčešće mokraćna kiselina), infektivni (struvit), cistiniski, ksantinski.

Na pojavu i učestalost bubrežnih kamenaca mogu utjecati genetski, nutritivni i ekološki čimbenici. U procesu stvaranja kamenaca ključnu ulogu imaju tri čimbenika: prezasićenost urina, prisutnost inhibitora i retencija kristalnih čestica. Urin je u uobičajenim uvjetima prezasićen otopina u kojoj se čestice održavaju u otopini utjecajem "zaštitnih koloida" i prisutnošću inhibitora kristalizacije.

Za što točniju procjenu stupnja prezasićenja urina danas se koristi sofisticirani računalni program EQUIL2. On uzima u obzir brojne urinarne komponente [36] i uključuje fizikalno-kemijske principe složenih ravnoteža koji omogućuju izračunavanje relativnog prezasićenja za sve važnije kemijske spojeve koji se pojavljuju u sastavu mokraćnih kamenaca. Biokemijski parametri za izračunavanje prezasićenja ovim programom podrazumijevaju pH, koncentraciju kalcija, magnezija, natrija, kalija, klorida, fosfora, urata, oksalata i citrata čije su, vrijednosti izražene u mol/L. U taj program još nisu uključeni glikozaminoglikani. Program je izazvao povećano zanimanje u eksperimentalnim i kliničkim istraživanjima i neprestano se proširuje s obzirom na nove kemijske vrste [36]. Iz tako izračunate prezasićenosti urina pokušavaju se definirati indeksi za identifikaciju osoba sklonih stvaranju mokraćnih kamenaca. Neki indeksi uzimaju u međusobni odnos koncentracije promotora (Ca, Ox) i inhibitora (Mg, Cit) kao npr. Ca/Cit, Ca/Mg [13,25] i indeks omjera Ox/CitxGAGx104 [2]. U literaturi se za procjenu prezasićenja koristi i ionsko aktivitetni produkt kalcij-oksalata AP(CaOx) predložen kao indeks od Tiselius-a te Risk indeks (RI) predložen od istog autora [34] kao i nomogram Marshalla i Robertsona [19]. 1994. godine Ogawa je uveo indeks AP(CaOx)EQ2 [22,23] koji u izračun uzima kao i Tiseliusov indeks najvažnije promotore (Ca, Ox) i inhibitore (Mg, Cit). Ovaj indeks ima tri prednosti pred konvencionalnim AP(CaOx) Tiseliusovim indeksom: bolje korelira s vrijednostima dobivenim programom EQUIL2; nije potreban volumen urina, dovoljna su ukupno četiri parametra, iii) može se koristiti uzorak urina skupljen u bilo koje doba dana, indeks nije ovisan o vremenu.

U budućnosti bi trebalo u program za izračun prezasićenosti uključiti i makromolekularne čimbenike [22].

Pirofosfati, peptidi i glikozaminoglikani jesu normalni sastavni dijelovi urina. Sastav glikozaminoglikana u urinu zdravih osoba pokazuje 55% hondroitin-sulfata, 20% heparan-sulfata, 11% nisko sulfatiranog hondroitin-sulfata, 4-10% hijaluronske kiseline itd. [1]. Glikoproteinske inhibitore izlučuju pojedini dijelovi tubularnog sustava, a njih predstavljaju nefrokalcin, uropontin, Tamm-Horsfallov glikoprotein, protein kristalnog matriksa i bubrežni litostatin.

Glikozaminoglikani (GAG) zajedno s nekim makromolekularnim organskim supstancama, kao što su određeni glikoproteini među kojima je Tamm-Horsfallov glikoprotein, i urinarnim proteinima, igraju važnu ulogu u stvaranju kamenaca kalcij-oksalata [38]. Međutim, uloga većine urinarnih makromolekula, a među njima i glikozaminoglikana, nije u cijelosti razjašnjena jer ih neki autori opisuju kao inhibitore, a neki kao promotore u stvaranju kalcij-oksalatnih kamenaca [39]. Urinarni glikozaminoglikani jesu proizvodi enzimatske razgradnje proteoglikana, izlučuju se putem urina, a nađeni su i u matriksu kamenaca [4, 38]. Njihova je koncentracija u urinu preniska da bi značajnije mogli utjecati na prezasićenje urina s kalcij-oksalatom. Međutim pretpostavlja se njihov učinak u prevenciji adhezije kristala na bubrežne stanice što predstavlja važan korak u razvitku urolitijaze [5]. Pokazano je da ukupni glikozaminoglikani inhibiraju rast i agregaciju kristala kalcij-oksalata kao cjelovitog, složenog događaja [3], a pojedinačno gledano, hondroitin-sulfat (ChS) inhibira kristalni rast i/ili agregaciju [29], nukleaciju i odlaganje kristalnih masa [14].

Moguća uloga glikozaminoglikana u interakcijama stanica-kristal još uvijek nije u potpunosti istražena. Osim što su prisutni u urinu u kojem na svoj način sudjeluju u procesu stvaranja kamenaca, oni su također prisutni na apikalnoj površini bubrežnih tubularnih stanica [15]. Iz toga se može pretpostaviti da takve tvorbe na površini uroepitelnih stanica osiguravaju zaštitni sloj koji sprječava zadržavanje kristala [8].

Organski matriks, bakterije, mukoproteini, oštećeni epitel ili celularni detritus često predstavljaju važan čimbenik oko kojeg se odvija agregacija kristala i stvaranje kamenaca. Vrlo je važna činjenica da je prezasićeni urin osoba koje ne stvaraju kamence u ravnoteži s inhibitorima koji sprječavaju kristalizaciju, nukleaciju i agregaciju određenih soli. Manjak inhibitora vodi kristalnom rastu i agregaciji, a dostatno prisustvo inhibitora u urinu može značajno utjecati na određene faze procesa kristalizacije, sprječavajući rast i agregaciju kristala [33]. Inhibitori mogu biti male molekularne mase (niskomolekularni inhibitori) kao što su citrati, magnezij i pirofosfati koji čine oko 20% inhibitornog potencijala urina i makromolekularni inhibitori kao što su glikozaminoglikani i glikoproteini odgovorni za 80% inhibitornog potencijala urina. Među glikozaminoglikanima najjači utjecaj na proces stvaranja bubrežnih kamenaca ima heparan-sulfat.

Za djelotvorno medicinsko i kirurško praćenje osoba koje stvaraju bubrežne kamence potrebna je točna analiza sastava kamenca koja uključuje i definiranje svih kristalnih komponenti koje se nalaze u sastavu kamenca. Za utvrđivanje kemijskog sastava kamenaca danas se kao referentne metode koriste infracrvena spektroskopija i metoda rendgenske difrakcije koje omogućuju visoki stupanj pouzdanosti za točnu analizu kamenaca, pogodne su za rutinski rad, brze su i trebaju malu količinu uzorka. Te

metode koriste sofisticiranu opremu i zahtijevaju usporedbu uzorka s poznatim standardima [18]. Tijekom zadnjih tridesetak godina učinjen je ogroman napredak na području istraživanja urolitijaze gdje su se s novijim spoznajama počeli razjašnjavati uzroci stvaranja kamenaca sa specifičnim molekularnim defektima. Za većinu osoba s bubrežnim kamencima danas je moguće postaviti specifičnu dijagnozu, a raspoloživ je i znatan broj lijekova za sprječavanje ponovnog stvaranja kamenaca. Osim toga kamenci se danas mogu odstraniti na mnogo lakši i manje invazivni način [24].

Glikozaminoglikani su u ovom radu predmet posebnog interesa te se istražilo još uvijek nepotpuno razjašnjenu ulogu glikozaminoglikana u procesu urolitijaze određivanjem koncentracije ukupnih glikozaminoglikana u prvom jutarnjem urinu osoba sklonih stvaranju kamenaca i zdravih osoba. Dobiveni rezultati u prvom jutarnjem urinu su standardizirani su izražavanjem dobivene koncentracije na količinu izlučenog kreatinina. U istraživanjima prikazanim u literaturi kao uzorak za metaboličku obradu osoba s urolitijazom uglavnom se koristio 24-satni urin dok je u ovom radu niz biokemijskih parametara određen u uzorku prvog jutarnjeg urina. Razlog tome su predanalitičke pogreške vezane uz korektno sakupljanje 24-satnog urina i utjecaj u tom slučaju neophodnih konzervansa na metaboličke parametre koji su bitni za urolitijazu.

Ispitivana je i prediktivna vrijednost nekih od već postavljenih indeksa koji definiraju čimbenike rizika za razvoj urolitijaze. Oni predstavljaju omjer između značajnijih promotora i inhibitora u procesu stvaranja mokraćnih kamenaca u uzorku prvog jutarnjeg urina. Statističkim metodama ispitana je značajnost razlika za rezultate navedenih parametara između skupine ispitanika sklonih stvaranju kamenaca i kontrolne skupine zdravih osoba.

ISPITANICI I METODE

U ispitivanoj su skupini osobe oba spola s kalcij-oksalatnom urolitijazom. Skupina ispitanika sastojala se od 62 osobe (31 muškarca u dobi od 18 do 64 godine i 31 žena u dobi od 25 do 63 godine). U kontrolnoj su skupini zastupljene osobe oba spola koje ne stvaraju mokraćne kamence. Kontrolnu skupinu sačinjavalo je 35 osoba, od toga je bilo 16 muškaraca u dobi od 25 do 64 godine i 19 žena u dobi od 21 do 65 godina. Za analizu se koristio prvi jutarnji urin osoba s kalcijjskim kamencima koje su evidentirane tijekom analize kemijskog sastava kamenaca metodom infracrvene spektrofotometrije. Ispitanici su bile osobe koje su se redovito kontrolirale u ambulanti za urolitijazu Klinike za urologiju, Kliničke bolnice Osijek. Svi su bili na uobičajenom režimu prehrane i unosa tekućine u organizam. Uzorak jutarnjeg urina dostavljao se u laboratorij u najkraćem mogućem vremenu u odgovarajućim plastičnim posudama. Kontrolnu skupinu sačinjavale su osobe bez podataka o stvaranju kamenaca. U uzorak za metaboličku obradu nije dodavan konzervans nego su odmah određene koncentracije kalcija, oksalata, citrata i kreatinina, a dio urina je odvojen, centrifugiran i spremljen u hladnjak na -20°C za određivanje koncentracije ukupnih glikozaminoglikana. Koncentracije svih parametara izražene su u odnosu na koncentraciju kreatinina u prvom jutarnjem urinu. Sve su analize napravljene na Odjelu za medicinsku biokemiju Kliničke bolnice Osijek. Koncentracija ukupnih

glikozaminoglikana u prvom jutarnjem urinu određena je metodom s karbazolom [32].

Koncentracija oksalata u prvom jutarnjem urinu određena je gotovim test kitom tvrtke Sigma Diagnostics [12], a koncentracija citrata u prvom jutarnjem urinu određena je gotovim test kitom firme Bohringer Mannheim [21].

Koncentracija kreatinina u prvom jutarnjem urinu određena je enzimatskom PAP metodom [30] s gotovim test kitom firme Roche, na autoanalizatoru Olympus AU400. Kemijski sastav bubrežnih kamenaca određen je metodom infracrvene spektrofotometrije na instrumentu IR Spektrofotometar Perkin Elmer model 882. Za statističku analizu dobivenih podataka metaboličke obrade korišten je Studentov t-test s razinom značajnosti $p < 0,05$. Studentov t-test i test korelacije između indeksa procjene rizika stvaranja kamenca i prezasićenja urina izračunatim s EQUIL2, posebnim programom za procjenu prezasićenja otopina, napravljeni su u Excelu 97.

REZULTATI RADA

Prikaz rezultata za metaboličke parametre u prvom jutarnjem urinu

U ovom radu vrijednosti biokemijskih parametara u prvom jutarnjem urinu izražene su u mmol/g kreatinina, osim za koncentraciju ukupnih glikozaminoglikana koji su izraženi u mg/g kreatinina za obje skupine ispitanika (muškarce i žene) te kontrolne skupine (muškarce i žene).

Tablica 1. prikazuje vrijednosti nekih izmjerenih biokemijskih parametara u prvom jutarnjem urinu kao srednje vrijednosti sa standardnom devijacijom za cijele skupine osoba koje stvaraju kamence u odnosu na kontrolne skupine, kako u muškaraca tako i u žena.

Vrijednosti navedene u tablicama korištene su za statističku obradu podataka za navedene biokemijske, odnosno metaboličke parametre izlučene u prvom jutarnjem urinu.

Rezultati statističke analize pomoću t-testa za vrijednosti biokemijskih parametara izmjerenih u prvom jutarnjem urinu pokazali su statistički značajnu razliku za koncentraciju kalcija, citrata i ukupnih glikozaminoglikana u muškaraca i u žena. Za koncentraciju ukupnih glikozaminoglikana dan je i grafički prikaz za muškarce (Slika 1.) i žene (Slika 2.).

Srednje vrijednosti koncentracije kalcija u urinu muških ispitanika ($3,92 \pm 2,41$) pokazuju za 32,4% više vrijednosti u odnosu na kontrolnu skupinu ($2,66 \pm 1,53$) što je statistički značajna razlika na nivou $p < 0,062$, a srednje vrijednosti koncentracije kalcija u urinu ženskih ispitanika ($4,45 \pm 2,74$) također pokazuju za 33,3% više vrijednosti u odnosu na kontrolnu skupinu ($2,98 \pm 1,66$) što je statistički značajna razlika na nivou $p < 0,05$ (Tablica 2.).

Srednje vrijednosti koncentracije oksalata u urinu za skupinu muških ispitanika ($0,22 \pm 0,08$) bile su za 18,6% više nego u kontrolnoj skupini ($0,18 \pm 0,09$), a kod žena ($0,24 \pm 0,12$) za

19,1% više nego u kontrolnoj skupini ($0,19 \pm 0,11$) (Tablica 3.).

Srednje vrijednosti koncentracije citrata u urinu muških ispitanika ($1,59 \pm 0,90$) pokazuju za 38,0% niže vrijednosti u odnosu na kontrolnu skupinu ($2,20 \pm 0,91$) što je statistički značajna razlika na nivou $p < 0,05$, a srednje vrijednosti koncentracije citrata u urinu ženskih ispitanika ($2,44 \pm 0,99$) pokazuju za 29,7% niže vrijednosti u odnosu na kontrolnu skupinu ($3,16 \pm 1,17$) što je statistički značajna razlika na nivou $p < 0,05$ (Tablica 4).

Tablica 5. daje srednje vrijednosti koncentracije ukupnih glikozaminoglikana u urinu za obje ispitivane skupine. GAG srednje vrijednosti u muškaraca ($4,16 \pm 2,02$) pokazuju za 36,8% niže vrijednosti u odnosu na kontrolnu skupinu ($5,70 \pm 1,69$) što je statistički značajna razlika na nivou $p < 0,05$, a srednje vrijednosti koncentracije ukupnih glikozaminoglikana u urinu ženskih ispitanika ($4,85 \pm 2,05$) pokazuju za 35,8% niže vrijednosti u odnosu na kontrolnu skupinu ($6,59 \pm 2,85$) što je statistički značajna razlika na nivou $p < 0,05$ (Tablica 5., Slika 1. i Slika 2.).

Prikaz rezultata za indekse procjene rizika povratne urolitijaze

S obzirom da niti jedan od navedenih biokemijskih parametara izlučenih urinom pojedinačno ne daje zadovoljavajući odgovor u smislu detekcije osoba sklonih stvaranju kamenaca, daljnja nastojanja u tom smislu usmjerena su prema definiranju njihovih međusobnih omjera. Oni su rezultat kombinacije parametara s inhibitorskim, odnosno promotorskim učinkom, na nastajanje kalcij-oksalatnih kamenaca, a njihovi međusobni odnosi definiraju indekse koji jasnije pokazuju razlike između stvaratelja kamenca i zdravih osoba.

Uz ionsko-aktivitetni produkt za kalcij-oksalat, AP(COM)EQ izračunat pomoću računalnog programa EQUIL2 za izračunavanje stupnja prezasićenja urina, korišteni su Ogawa indeks, Tiseliusov indeks (RI) i indeksi omjera Ca/Cit, Ca/Mg te osobito omjer $Ox/Cit \times GAG \times 104$ koji uz inhibitorsko djelovanje citrata uključuje i utjecaj glikozaminoglikana na stvaranje kamenaca.

Tablica 6. daje pregled srednje vrijednosti i standardne devijacije (srednja vrijednost \pm SD) za indekse procjene rizika urolitijaze u prvom jutarnjem urinu po skupinama ispitanika (muškarci, žene) i u kontrolnim skupinama (muškarci, žene). Usporedba vrijednosti indeksa procjene rizika urolitijaze određivana je također Studentovim t-testom na postojanje razlike između skupina ispitanika i kontrolnih skupina.

Učinjene su korelacije između Tiselius (RI) indeksa i Ogawa indeksa s ionsko-aktivitetnim produktom za kalcij-oksalat, AP(COM)EQ, dobivenim izračunom pomoću računalnog programa EQUIL2 u cilju provjere njihove vrijednosti u procjeni rizika od povratne urolitijaze.

Na slici 3. prikazana je pozitivna korelacija između ionsko-aktivitetnog produkta kalcij oksalata, AP(COM)EQ i Ogawa indeksa za skupinu ispitanika s koeficijentom korelacije ($r = 0,96662$ $p < 0,05$), dok je na slici 4. prikazana korelacija za kontrolnu skupinu s koeficijentom korelacije ($r = 0,89149$ $p < 0,05$). Očigledno je da u oba slučaja postoji odlična korelacija.

TABLICA 1.

Pregled vrijednosti metaboličkih čimbenika (srednja vrijednost ± SD) važnih za kalcijску urolitijazu u prvom jutarnjem urinu

TABLE 1

Review of metabolic factor values (mean± SD) significant for calcium urolithiasis in the first morning urine

Parametri Parameters	Ispitanici Patients		Kontrole Controls		
	muškarci male	žene female	muškarci male	žene female	
	Kalcij (mmol/g kr) Calcium (mmol/g cr)	3,92 ± 2,41	4,45 ± 2,74	2,66 ± 1,53	2,98 ± 1,66
	Oksalat (mmol/g kr) Oxalate (mmol/g cr)	0,22 ± 0,08	0,24 ± 0,12	0,18 ± 0,09	0,19 ± 0,11
Citrati (mmol/g kr) Citrate (mmol/g cr)	1,59 ± 0,90	2,44 ± 0,99	2,20 ± 0,91	3,16 ± 1,17	
Glikozaminoglikani (mg/g kr) Glycosaminoglycans (mg/g cr)	4,16 ± 2,02	4,85 ± 2,05	5,70 ± 1,69	6,59 ± 2,85	

RASPRAVA

Istraživanja urolitijaze provedena posljednjih 40-ak godina rezultirala su boljim razumijevanjem različitih čimbenika uključenih u proces stvaranja kamenaca. Danas postoji mnogo bolja procjena molekularne i genske osnove različitih bolesti povezanih sa stvaranjem kamenaca, uključujući hiperoksaluriju, hiperkalciuriju i hipocitraturiju. Jasno je da stvaranje kamenca nije jednostavno rezultat promjena u koncentraciji pojedinih komponenti u urinu, kao što su kalcij, oksalati, magnezij, citrat ili određene makromolekule, već je ustvari posljedica njihovih međusobnih interakcija. Prisutni ioni utječu na stvaranje kamenaca, ne samo sudjelovanjem u kristalizaciji, nego i kroz interakcije s bubrežnim stanicama.

U okviru metaboličke obrade u ovom radu posebna pažnja bila je usmjerena promptnoj analizi prvog jutarnjeg urina s pregledom sedimenta na prisustvo kristala, zbog činjenice da je hipotermija poznati stimulator kristalogeneze [6]. Zastupljenost kristalurije u obje skupine (ispitanici i kontrole) i po vrsti kristala i po učestalosti je u skladu je s literaturnim podacima o kalcij-oksalatnoj kristaluriji kako u osoba koje stvaraju kamence (9-

40%) tako i u onih koji ih ne stvaraju (2-11%). Prema tim podacima veća je učestalost kristalurije u osoba koje stvaraju kamence, a stvoreni kristali su veći nego u osoba koje ne stvaraju kamence [26]. To je u skladu sa zapažanjima Robertsona da se u urinu osoba koje su sklone stvaranju kamenaca nalaze veći agregirani kristali kalcij-oksalata-dihidrata dok se u osoba koje ne stvaraju kamence pretežno nalaze sitni kristali kalcij-oksalat-monohidrata [27ss]. Činjenica je da kristalurija ne korelira s utvrđenim metaboličkim poremećajima. Odsutnost kristalurije unatoč visokom stupnju prezasićenja urina može ukazivati na retenciju kristala na tubularnom nivou ili na moguću snažnu ulogu inhibitora stvaranja kamenca, gdje eventualno treba razmotriti i ulogu makromolekula [17].

Prema podacima iz literature, 24-satni urin predstavlja zlatni standard za metaboličku obradu osoba koje stvaraju kamence. Međutim, skupljanje je tog uzorka vremenski zahtjevno i nepouzdanost. Zbog nekorektnog skupljanja dobiva se netočan volumen 24-satnog urina koji je uzrok značajnih pogrešaka u izražavanju dnevnog izlučivanja sastojaka koji se nalaze u sastavu kamenaca. Iz tih razloga skoro se jedna trećina skupljenih urina mora odbaciti [31]. Stoga je u ovom radu izabran prvi

TABLICA 2.
 Pregled vrijednosti koncentracije kalcija (mmol/g kr) u prvom jutarnjem urinu
 TABLE 2
 Review of calcium concentration values (mmol/g cr) in the first morning urine

Kalcij Calcium	Ispitanici Patients			Kontrole Controls		
	muškarci male	žene female	ukupno total	muškarci male	žene female	ukupno total
	Minimum Minimum	0,97	1,15	0,97	0,97	0,55
Maksimum Maximum	11,70	12,56	12,56	6,95	6,30	6,95
Raspon Range	10,73	11,41	11,59	5,99	5,75	6,40
Srednje vrijednosti Mean	3,92	4,45	4,19	2,66	2,98	2,83
Medijan Median	3,36	3,73	3,46	2,47	3,00	2,70
Standardna devijacija Standard deviation	2,41	2,74	2,57	1,53	1,66	1,59

jutarnji urin, koji se prema literaturnim podacima rjeđe koristio kao uzorak za metaboličku obradu. Koncentracije svih biokemijskih parametara izražene su u odnosu na koncentraciju kreatinina u prvom jutarnjem urinu. Zbog razlika u količini izlučenog kreatinina u urinu [16] i učestalosti kamenaca prema spolu [11] odvojeno su analizirani dobiveni rezultati za muškarce i za žene. Usporedbom rezultata metaboličkih parametara ispitanika i kontrolne skupine nastojalo se utvrditi postojanje značajnih razlika u izlučivanju tih parametara urinom. Vrijednosti za biokemijske parametre nešto su više u žena. Više vrijednosti u žena u odnosu na muškarce vjerojatno su posljedica smanjenog izlučivanja

kreatinina u urinu u žena i prikazivanja rezultata na količinu izlučenog kreatinina (Tablica 1.).

Statističkom analizom tih podataka pomoću Studentova t-testa utvrđeno je postojanje statistički značajne razlike za koncentracije kalcija, citrata i ukupnih glikozaminoglikana i u muškarca i u žena.

Muški su ispitanici pokazivali više koncentracije kalcija u urinu za 32,4% u odnosu na kontrolnu skupinu sa statistički značajnom razlikom ($p < 0.05$ $t = 1.908$), a ženski ispitanici za 33,3%

TABLICA 3.
 Pregled vrijednosti oksalata (mmol/g kr) u prvom jutarnjem urinu
 TABLE 3.
 Review of oxalate concentration values (mmol/g cr) in the first morning urine

Oksalati Oxalate	Ispitanici Patients			Kontrole Controls		
	muškarci male	žene female	muškarci male	žene female	muškarci male	žene female
	Minimum	0,09	0,10	0,09	0,03	0,03
Maksimum	0,46	0,69	0,69	0,36	0,37	0,37
Raspon	0,37	0,59	0,60	0,32	0,34	0,34
Srednje vrijednosti	0,22	0,24	0,23	0,18	0,19	0,19
Medijan	0,21	0,22	0,21	0,16	0,16	0,16
Standardna devijacija	0,08	0,12	0,10	0,09	0,11	0,10

više koncentracije nego u kontrolnoj skupini s također značajnom razlikom ($p < 0.05$ $t = 2.112$) koje su bile nešto više u odnosu na muške ispitanike (Tablica 1. i 2.). Dobiveni rezultati su u skladu s literaturnim podacima [31] koji pokazuju više srednje vrijednosti koncentracije kalcija u prvom jutarnjem urinu u osoba koje stvaraju kamence u odnosu na one koji nemaju tu sklonost. Rezultati ukazuju na očiglednu značajnu promotivnu ulogu kalcija u stvaranju kamenaca.

Usporedba vrijednosti za koncentraciju oksalata u prvom jutarnjem urinu za ispitanike i kontrolnu skupinu nije pokazala statis-

tički značajnu razliku kod muških i ženskih ispitanika (Tablica 1. i 3.).

Prikazane vrijednosti rezultata za koncentraciju citrata u skladu su s podacima iz literature [31] koji pokazuju niže srednje vrijednosti koncentracije citrata u skupinama ispitanika u odnosu na kontrolnu skupinu i više vrijednosti u žena. To ukazuje na inhibitornu ulogu citrata u procesu urolitijaze kao i to da više koncentracije citrata vjerojatno doprinose smanjenoj učestalosti kamenaca u žena u odnosu na muškarce (Tablica 1. i 4.).

TABLICA 4.
 Pregled vrijednosti koncentracije citrata (mmol/g kr) u prvom jutarnjem urinu
 TABLE 4.
 Review of citrate concentration values (mmol/g cr) in the first morning urine

Citrati Citrate	Ispitanici Patients			Kontrole Controls		
	muškarci male	žene female	muškarci male	žene female	muškarci male	žene female
	Minimum	0,35	0,45	0,35	0,63	0,97
Maksimum	3,87	4,50	4,50	3,75	5,22	5,22
Raspon	3,52	4,05	4,15	3,12	4,25	4,59
Srednje vrijednosti	1,59	2,44	2,01	2,20	3,16	2,72
Medijan	1,58	2,41	1,89	2,03	3,11	2,48
Standardna devijacija	0,90	0,99	1,03	0,91	1,17	1,15

Dobiveni rezultati koncentracije ukupnih glikozaminoglikana, slično kao kod citrata, ukazuju na njihovu inhibitornu ulogu (Tablica 1. i 5.) na što ukazuju i neki radovi [20]. Međutim, literaturni podaci općenito ne daju još cjelovite i jednoznačne rezultate u određenju uloge glikozaminoglikana (inhibitor, promotor). Očigledno je da se istraživanja o ulozi glikozaminoglikanima u procesu urolitijaze trebaju nastaviti i proširiti, zbog čega je njima u ovom radu posvećena posebna pažnja.

Određivanjem koncentracije ukupnih glikozaminoglikana u urinu ne može se do kraja odgovoriti na pitanje o stvarnoj ulozi

glikozaminoglikana u procesu stvaranja kamenaca zbog bitno različitog doprinosa pojedinačnih glikozaminoglikana u pojedinim fazama nastanka kamenca. Stoga je potrebno razmotriti njihovu pojedinačnu ulogu kao makromolekularnih čestica u urinu, kao i njihov doprinos u retenciji nastalih kristalnih čestica.

Pojmovi poput retencija kristala i aspekt fiksacije kristala na stanične strukture u urotaktu doveli su u prvi plan interakcije između kristala kalcij oksalata i bubrežnog tkiva kao podlogu za nastanak kamenaca. Prvi i odlučujući korak u stvaranju kamenaca mogao bi biti fiksiranje kristala na površinu bubrežnih stan-

TABLICA 5.
 Pregled vrijednosti koncentracije glikozaminoglikana (mg/g kr) u prvom jutarnjem urinu
 TABLE 5.
 Review of glycosaminoglycan concentration values (mg/g cr) in the first morning urine

Glikozaminoglikani Glycosaminoglycans	Ispitanici Patients			Kontrole Controls		
	muškarci male	žene female	muškarci male	žene female	muškarci male	žene female
	Minimum	0,41	0,47	0,41	3,81	2,39
Maksimum	7,85	8,97	8,97	9,16	12,49	12,49
Raspon	7,44	8,50	8,56	5,35	10,10	10,10
Srednje vrijednosti	4,16	4,85	4,51	5,70	6,59	6,18
Medijan	4,67	4,63	4,65	5,14	5,58	5,44
Standardna devijacija	2,02	2,05	2,04	1,69	2,85	2,40

ica. Mjesta s uništenim ili oštećenim glikozaminoglikanskim pokrovnim slojem unutarnjih bubrežnih stijenki predstavljala bi predilekzione točke vezanja kristala. Oštećeni glikozaminoglikanski zaštitni sloj unutarnje bubrežne stijenke jedan je od glavnih čimbenika u olakšanom stvaranju kamenaca. Sastav je urina prema tome od sekundarnog značenja jer se čak i kod ekstremno visokih prezasićenja neće stvoriti kamenci ukoliko ne postoji oštećenje tog sloja. Bilo koji pokušaj razvijanja kriterija za određivanje sklonosti pacijenata za stvaranje kamenaca utemeljen isključivo na sastavu urina ne može biti u cjelosti uspješan. Klinička promatranja sugeriraju da se kamenci stvaraju

većinom u jednom i uvijek u istom bubregu pojedinog stvaratelja bubrežnih kamenaca bez obzira na identičan sastav urina stvorenog u oba bubrega.

Rezultati dobiveni u ovom radu za ostale metaboličke parametre pokazuju da navedeni parametri imaju manji doprinos u procesu nastanka kamenaca, a to potvrđuju i literaturni podaci [31].

Prema učestalosti metaboličkih poremećaja u ispitivanim skupinama rezultati pokazuju prisutnost hiperkalciurije u 35% muškaraca i 32% žena, hiperoksalurije u 23% muškaraca i 16%

TABLICA 6.
 Pregled indeksa procjene rizika urolitijaze (srednja vrijednost ± SD) po skupinama
 TABLE 6.
 Review of indices in the evaluation of the risk of urolithiasis (mean ± SD) in groups

Indeksi Indices	Ispitanici Patients		Kontrole Controls	
	muškarci male	žene female	muškarci male	žene female
	Ca/Cit	3,135 ± 2,784	2,317 ± 2,233	1,504 ± 1,209
Ca/Mg	1,399 ± 0,623	1,546 ± 0,817	1,179 ± 0,714	0,917 ± 0,501
AP(COM) EQ x10 ⁻⁸	1,979 ± 1,310	1,521 ± 0,809	1,471 ± 1,092	1,000 ± 0,944
Ogawa indeks x10 ⁻⁸ Ogawa index x10 ⁻⁸	0,892 ± 0,556	0,739 ± 0,423	0,816 ± 0,559	0,461 ± 0,383
Tiselius indeks (RI) Tiselius index(RI)	491,7 ± 246,4	567,7 ± 406,4	331,2 ± 253,6	375,8 ± 305,7
Ox/Cit x GAG x10 ⁴ (Baggio indeks) (Baggio index)	731,3 ± 847,1	404,0 ± 379,1	162,4 ± 164,8	186,0 ± 210,9

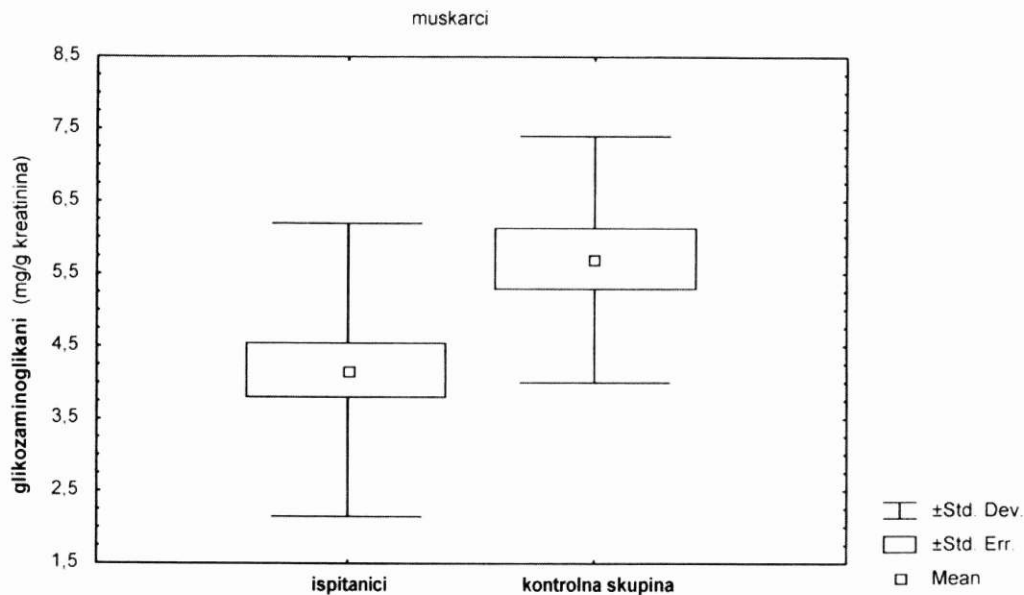
žena. Hipocitaturija utvrđena je u 42% muškaraca i 35% u žena. Rezultate o učestalosti metaboličkih poremećaja u osoba s urolitijazom u ovom radu potvrđuju nalazi drugih autora [10,35].

Danas je općenito prihvaćena činjenica da kalcij-oksalatna urolitijaza predstavlja multifaktorijalnu bolest prilikom koje je rizik stvaranja kamenaca ovisan o poremećaju ravnoteže između prezasićenja urina i koncentracije zaštitnih inhibitora. Detektiranje promijenjenog odnosa promovirajućih i inhibirajućih čimbenika predstavlja prihvatljiviji pristup problemu negoli je analiza pojedinačnih biokemijskih sastojaka u urinu. Kvantificiranjem poremećaja te ravnoteže mogao bi se procijeniti rizik od ponovnog stvaranja kamenaca. U tom su smislu razmatrane mogućnosti korištenja međusobnih omjera sastojaka izlučenih urinom, što je rezultiralo cijelim nizom indeksa za procjenu rizika stvaranja kamenaca.

Muški su ispitanici pokazivali znatno više vrijednosti omjera Ox/CitxGAGx10⁴ sa značajnom razlikom (p<0.05 t=2,566) kao i ženski ispitanici sa (p<0.05 t=2,287) u odnosu na kontrolnu skupinu (Tablica 6.), što je pokazao i Baggio u svom radu [2]. Prema literaturnim podacima indeks Ox/CitxGAGx10⁴ je u mogućnosti odvojiti više od 80% stvaratelja od kontrola. Iz praktičnih razloga interesantno je napomenuti da ovaj indeks Ox/CitxGAGx10⁴ omogućuje gotovo iste rezultate i u slučaju kad se koristi jednokratni urin čime bi se izbjegle poteškoće vezane uz skupljanje 24-satnog urina i dijetalne restrikcije [2].

U radu su korelirani Tiselius (RI) indeks i Ogawa indeks s ionsko aktivitetnim produktom za kalcij oksalat, AP(COM)EQ dobivenim pomoću EQUIL2 u cilju provjere njihove prediktivne vrijednosti u procjeni rizika od povratne urolitijaze (Tablica 6.). Na slici 3. prikazana je pozitivna korelacija između ionsko aktivitetnog produkta kalcijeva oksalata, AP(COM)EQ, i Ogawa

ispitanici – patients; kontrolna skupina – controls; muškarci – male;



glikozaminoglikani - glycosaminoglycans

SLIKA 1.

Grafički prikaz usporedbe srednjih vrijednosti i stanadardne devijacije (srednja vrijednost ± SD) za glikozaminoglikane u prvom jutarnjem urinu u muškaraca

FIGURE 1.

Graphical presentation of comparison of mean values with standard deviation (mean ± SD) for glycosaminoglycans in the first morning urine in men

indeksa, za skupinu ispitanika s koeficijentom korelacije $r=0,96662$ ($p<0,05$), dok je na slici 4. prikazana korelacija za kontrolnu skupinu s koeficijentom korelacije $r= 0,89149$ ($p<0,05$). Očigledno je da u oba slučaja postoji visoka korelacija.

Pozitivna korelacija između ionsko-aktivitetnog produkta kalcij-oksalata, $AP(COM)EQx10^{-8}$ i Tiselius indeksa (RI) nešto je slabija u odnosu na onu vezanu uz Ogawa indeks. Pretpostavlja se da je uzrok tome što je RI indeks izvorno definiran za 24-satni urin. Uvrštavanjem biokemijskih parametara urina dobivenih za prvi jutarnji urin u izračun RI indeksa, testiralo ga se u uvjetima određivanja ovoga rada. Očigledno je iz ovih rezultata da su skoro svi indeksi osiguravali puno bolju diskriminaciju između ispitanika i kontrolne skupine u odnosu na pojedinačne metaboličke parametre.

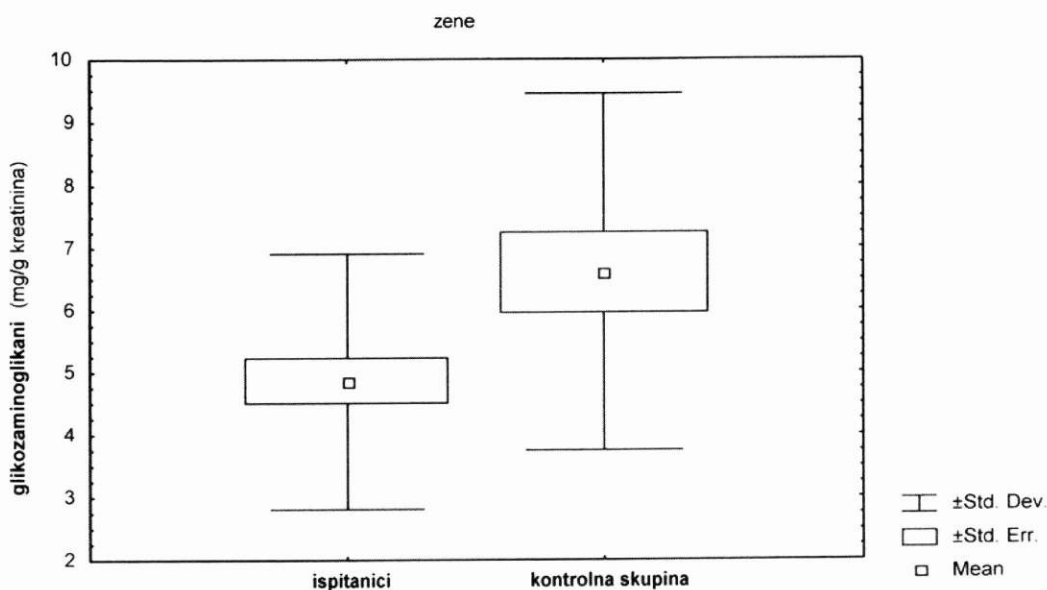
ZAKLJUČAK

Na osnovi rezultata metaboličke obrade prvog jutarnjeg urina osoba s kalcijском urolitijazom i osoba koje ne stvaraju kamence, procjenom pojedinačnih parametara može se zaključiti sljedeće:

- značajnija razlika između skupina postoji samo za vrijednosti kalcija, citrata i ukupnih glikozaminoglikana, dok ostali parametri ne pokazuju značajniju razliku. To ukazuje da navedeni parametri imaju značajnu ulogu u nastanku kalcijjskih kamenaca. Ispitanici pokazuju više vrijednosti kalcija što ukazuje na njegovu promotorsku ulogu jer doprinosi povećanju prezasićenja urina, a citrati i glikozaminoglikani jesu niži nego u kontrolnoj skupini što potvrđuje njihovu inhibitornu ulogu u ovom procesu. Na osnovi učestalosti metaboličkih poremećaja u osoba koje stvaraju kamence vidljivo je da hipocitraturija i hiperkalcemija predstavljaju najčešće metaboličke poremećaje.
- Mogući su problemi i pogreške u vezi sa skupljanjem 24-satnog urina koji se najčešće koristi za metaboličku obradu, zbog čega je u ovom radu kao uzorak izabran prvi jutarnji urin. Rezultati su standardizirani izražavanjem na kreatinin izlučen u prvom jutarnjem urinu što je jedan od razloga zašto su ispitanici analizirani prema spolu. Dobiveni rezultati pokazuju da je prvi jutarnji urin dobar izbor jer olakšava postupak dobivanja uzoraka.
- Literaturni su podaci o doprinosu glikozaminoglikana u procesu stvaranju kamenaca proturječni, a rezultati ovog rada potvrdili su njihovu inhibitornu ulogu u stvaranju kamenaca.

ispitanici – patients; kontrolna skupina – controls; žene – female;

glikozaminoglikani - glycosaminoglycans



SLIKA 2.

Grafički prikaz usporedbe srednjih vrijednosti i standardne devijacije (srednja vrijednost \pm SD) za glikozaminoglikane u prvom jutarnjem urinu u žena

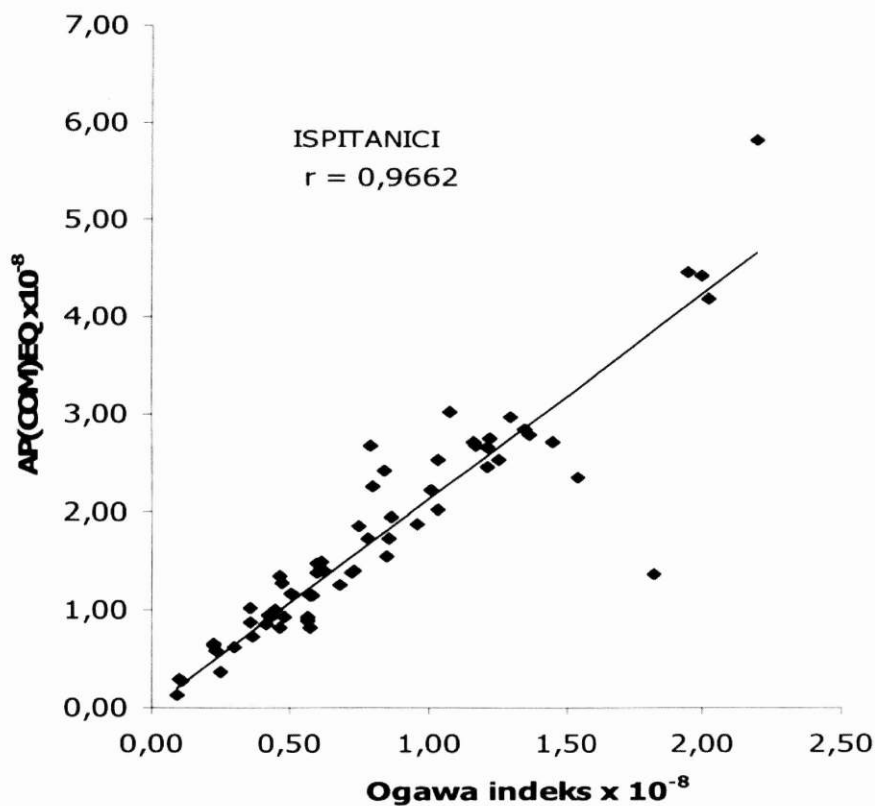
FIGURE 2.

Graphical presentation of comparison of average values and standard deviation (mean \pm SD) for glycosaminoglycans in the first morning urine for women

- Dobiveni rezultati prezasićenja izračunati računalnim programom EQUIL2 uspoređivani su s indeksima koji prikazuju omjer promovirajućih i inhibirajućih supstanci u urinu, a ukazuju na poremećaj u njihovoj međusobnoj ravnoteži. Rezultati za skupinu ispitanika pokazuju visoku korelaciju Ogawa indeksa s ionskim aktivitetnim produktom nastajanja kalcij-oksalata u urinu izračunatim s EQUIL2 programom (AP(COM)EQ) ($r=0,9662$) dok metabolički indeks rizika kristalizacije, nastajanja kalcij-oksalata (Tiselius (RI) indeks) ima nižu korelaciju s istim ionsko-aktivitetnim produktom (0.4718). Niža korelacija između Tiselius indeksa (RI) i (AP(COM)EQ) vjerojatno je posljedica korištenja prvog jutarnjeg urina kao uzorka u kojem su vrijednosti kreatinina više nego u 24-satnom urinu za koji je ovaj indeks primarno definiran. Indeks Ox/CitxGAGx104 pokazuje najizrazitije razlike između ispitanika i kontrolne skupine, a ima dodatnu prednost što uzima u obzir i vrijednosti glikozaminoglikana određivane u ovom radu koje za sada nisu uključene u EQUIL2. Većina indeksa pokazala je značajnu razliku između ispitanika i kontrolne skupine u odnosu na procjenu zasnovanu na pojedinačnim parametrima. To na kraju potvrđuje već navedenu činjenicu da je urolitijaza multifaktorijalan proces.
- Doprinos je novim istraživanjima u što boljem razumijevanju procesa urolitijaze te sprječavanju recidiva čemu pridonose istraživanja metaboličkih parametara u prvom jutarnjem urinu koji nije tako čest uzorak istraživanja u literaturnim radovima (čime se mogu izbjeći poteškoće i pogreške vezane uz skupljanje 24-satnog urina). Rezultati se standardiziraju izažavanjem koncentracije prema kreatininu izlučenom urinom za razliku od dosadašnjih prikaza koncentracije u mmol/L ili mmol/dU.

Zahvala

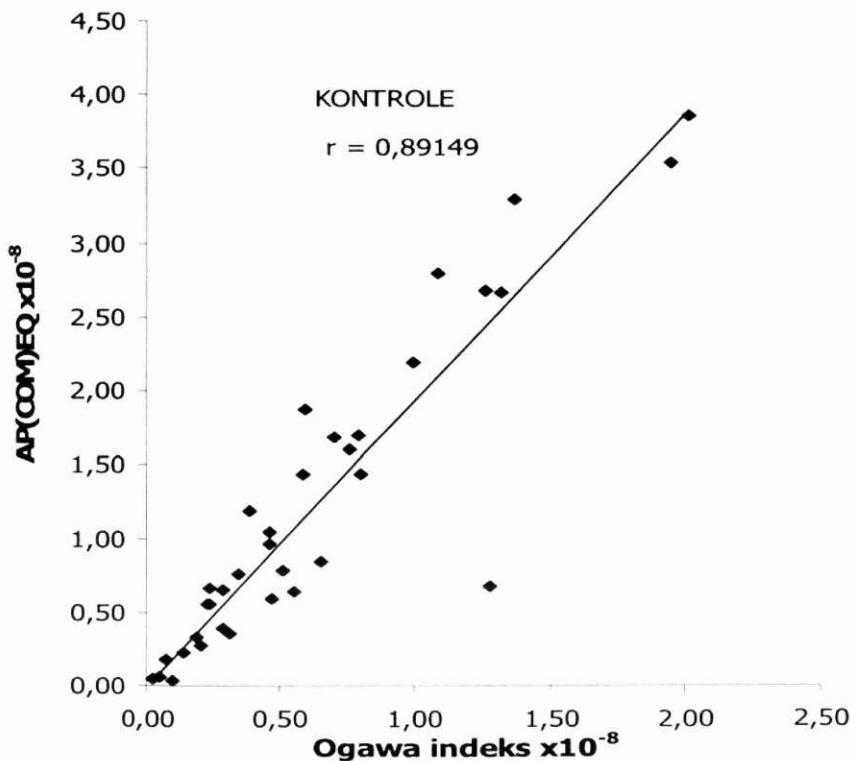
Zahvaljujemo Ministarstvu znanosti obrazovanja i športa Republike Hrvatske na financijskoj potpori (Projekt 219-2192190-2069).



SLIKA 3.
Linearni odnos između Ogawa indeksa i ionsko aktivitetnog produkta kalcij-oksalata, (AP(COM)EQx10⁻⁸ u skupini ispitanika (N=62)

FIGURE 3.
Linear relation between Ogawa index and ion-activity product of calcium-oxalate, (AP(COM)EQx10⁻⁸ in the group of patients (N=62)

Ogawa indeks – Ogawa indeks, ispitanici - patients



SLIKA 4.
Linearni odnos između Ogawa indeksa i ionsko aktivitetnog produkta kalcij-oksalata, (AP(COM)EQx10⁻⁸ u kontrolnoj skupini (N=35)

FIGURE 4.
Linear relation between Ogawa index and ion-activity product of calcium-oxalate, (AP(COM)EQx10⁻⁸ in the control group (N=35)

Ogawa indeks – Ogawa indeks, kontrole - controls

LITERATURA

1. Baba S, Nakazawa K, Odazima K, Fujioka T, Nakamura H. Observation on urinary glycosaminoglycan excretion in patients with urinary calculus in relation to nature of organic matrix of calculi. *Jap J Urol.* 1983;74(4):608-15.
2. Baggio B, Gambaro G, Oliva O, Favaro S, Borsatti A. Calcium oxalate nephrolithiasis: an easy way to detect an imbalance between promoting and inhibiting factors. *Clin Chim.* 1986;160:79-86.
3. Bowyer RC, Brockis JG, McCulloch RK. Glycosaminoglycans as inhibitors of calcium oxalate crystal growth and aggregation. *Clin Chim Acta.* 1979;95:23-8.
4. Boyce W, Garvey FK. The amount and nature of organic matrix in urinary calculi: review. *J Urol.* 1956;76:213-17.
5. Dussol B, Berland Y. Urinary kidney stone inhibitors. Where are we? *Nephrol Dial Transplant.* 1996;11:1222-4.
6. Eliot JS, Rabinovitz IN. Calcium oxalate crystalluria: crystal size in urine. *J Urol.* 1980;123:324-7.
7. Furedi-Milhofer H. Precipitation and interfacial phenomena in biological mineralization - introductory - remarks. *Croat Chem Acta.* 1983;56:721-40.
8. Gill WB, Jones KW, Ruggiero KJ. Protective effects of heparin and other glycosaminoglycans on crystal adhesion to injured urothelium. *J Urol.* 1981;127: 152.
9. Gohel M. D. I, Shum D. K. Y, Li M. K. Crystallization of urinary calcium oxalate at standardized osmolality and pH in the frozen state *Clin Chim Acta.* 1994;231:11-22.
10. Grases F, March J.G, Conte A, Costa-Bauza A. New aspects on the composition, structure and origin of calcium oxalate monohydrate calculi. *Eur Urol.* 1993;24:381-6.
11. Hesse A, Classen A, Knoll M, Timmermann F, Vahlensieck W. Dependence of urine composition on the age and sex of healthy subjects. *Clinica Chimica Acta* 1986;160:79-86.
12. Hodgkinson A, Williams A. Improved colorimetric procedure for urine oxalate. *Clin Chim Acta.* 1972;36:127-32.
13. Jorgensen F.S. Urinary excretion and serum concentration of calcium, magnesium, sodium and phosphate in male patients with recurring stone renal stone formation. *Scand J Urol Nephrol.* 1975;9:243-48.
14. Kohri K, Garside J, Blacklock NJ. The effect of glycosaminoglycans on the crystallisation of calcium oxalate. *Br J Urol.* 1989;63:584-90.
15. Kok DJ, Khan SR. Calcium oxalate nephrolithiasis, a free or fixed particle disease. *Kidney Int.* 1994;46(3):847-54.
16. Krieg M, Gunser K-J. Vergleichende quantitative Analytik klinisch-chemischer Kenngrößen im 24-Stunden-Urin und Morgenurin. *J Clin Chem Clin Biochem.* 1986;24:863-9.
17. Lanzalaco AC, Singh RP, Smesko SA, Nancolas GH, Surfin G, Binette M, i sur. The influence of urinary macromolecules on calcium oxalate monohydrate crystal growth. *J Urol.* 1988;139:190-5
18. Mandel G, Mandel N. Kidney stones: medical and surgical management. Coe FL, Favus MJ, Cpak CY, Parks H, Preminger GM, urednici. Philadelphia; Lippincott 1996.
19. Marshal RW, Robertson WG. Nomogram for the estimation of the saturation of urine with calcium oxalate, calcium phosphate, magnesium ammonium phosphate, uric acid, sodium acid urate, ammonium acid urate and cystine. *Clin Chim Acta.* 1976;72:253-60.
20. Milošević D, Batinić D, Blau N, Konjevoda P, Štambuk N, Votava-Raić A, i sur. Determination of urine saturation with computer program Equil2 as method for estimation of risk of urolithiasis. *J Chem Inf Comput Sci.* 1998;38:646-50.
21. Mollering H, Gruber W. Determination of citrate with citrate lyase. *Anal Biochem.* 1966;17:369-76.
22. Ogawa Y, Hatano T. Comparison of the EQUIL2 program and other methods for estimating the ino-activity product of urinary calcium oxalate: a new simplified method is proposed. *Int J Urol.* 1996;3:383-5.
23. Ogawa Y. Impact of sodium-potassium citrate on the diurnal variations in urinary calcium oxalate and calcium phosphate saturation levels in normal individuals. *Br J Urol.* 1994;73:136-41.
24. Pak C. Y. C. Kidney stones. *Lancet* 1998;351:1797-801.
25. Parks JH, Coe Fl. A urinary-citrate index for evaluation of nephrolithiasis. *Kidney Int.* 1986;30:85-90.
26. Robert M, Boularan AM, Delbos O, Monnier L, Grasset D. Evaluation of the risk of stone formation: tudy on crystalluria in patients with recurrent calcium oxalate urolithiasis. *Eur Urol.* 1996;29:456-61.
27. Robertson WG, Peacock M, Nordin BEC. Calcium crystalluria in recurrent renal stone formers. *Lancet.* 1969;2(7610):21-4.
28. Ryall RL, Harnett RM, Marshall VR. The effect of urine pyrophosphate, citrate, magnesium and glycosaminoglycans on the growth and aggregation of calcium oxalate crystals in vitro. *Clin Chim Acta.* 1981;112:349-56.
29. Siedel J, Mollering H, Ziegenhorn J. Sensitive color reagent for the enzymic determination of creatinine. *Clin Chem.* 1984;30:968.
30. Strohmaier WL, Hoelz KJ, Bichler KH. Spot urine samples for the metabolic evaluation of urolithiasis patients. *Eur Urol.* 1997;33:323-32.
31. Teller WM, Burke EC, Rosevear JW, McKenzie BF. Urinary excretion of acid mucopolysaccharides in normal children and patients with gargoylism. *J Lab Clin Med.* 1962;59:95-101.
32. Tiselius HG, Ackermann D, Hess B, Boeve E. Stone disease: diagnosis and medical management. *Eur Urol.* 2002;41(5):1-11.
33. Tiselius HG. An improved method for routine biochemical evaluation of patients with recurrent calcium oxalate stone disease. *Clin Chim Acta.* 1982;122:409-18.
34. Tucak A, Šerić V, Kozmar D, Sikirić M, Zorić I, Babić-Ivančić V. Correlation of urine metabolic factors and urinary stones. *Period Biol.* 1999;101:35-44.
35. Verkoelen CF, Romijn JC, Cao LC, Boeve ER, de Bruijn WC, Schroder FH. Crystal-cell interaction inhibition by polysaccharides. *J Urol.* 1996;155:749-52.
36. Werness PG, Brown CM, Smith LH, Finlayson A. EQUIL2 : a basic computer program for the calculation of urinary saturation. *J Urol* 1985;134:1242-4.
37. Wilkinson H. Clinical investigation and management of patients with renal stones. *Ann Clin Biochem.* 2000;38:180-7.
38. Yamaguchi S, Yoshioka T, Utsunomiya M, Koide T, Osafune M, Okuyama A, i sur. Heparan sulfate in the stone matrix and its inhibitory effect on calcium oxalate crystallization. *Urol Res.* 1993;21:187-92.
39. Yoshimura K, Yoshioka T, Miyake O, Honda M, Yamaguchi S, Koide T, i sur. Glycosaminoglycans in crystal-surface binding substances and their role in calcium oxalate crystal growth. *Br J Urol.* 1997;80:64-68.

THE ROLE OF GLYCOSAMINOGLYCANS IN THE PROCESS OF KIDNEY AND/OR URINARY STONES FORMATION

Vatroslav Šerić¹, Maja Sikirić², Antun Tucak³, Vesna Babić-Ivančić^{2,3}

¹Department of Medical Biochemistry, University Hospital Osijek, Osijek, Croatia

²Ruder Bošković Institute, Zagreb, Croatia

³Faculty of Medicine Osijek, Osijek, Croatia

ABSTRACT

The role of glycosaminoglycans in the process of kidney stone formation in calcium urolithiasis was examined. There are contradictory references about their role in this process (promoters or inhibitors). We attempted to define factors of risk for urolithiasis development.

The test group consisted of both genders with calcium stones. A concentration of total glycosaminoglycans, expressed according to concentration of creatinine in urine, was determined in the first morning urine.

The results showed statistically significantly lower values of total glycosaminoglycans in relation to control group, indicating the possibility of their role as inhibitors. Better discrimination among groups can be achieved, if the results of glycosaminoglycan concentration are shown in the form of (Baggio) index.

Key words: kidney stones, urinary stones, urolithiasis, glycosaminoglycans

Acknowledgement

This research has been supported by the Ministry of Science, Education and Sports of the Republic of Croatia (Project no. 219-2192190-2069)