

T.C.
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARKLI SPEKTROMETRİK TEKNİKLER KULLANARAK
BÖBREK TAŞ TÜRLERİNİN BELİRLENMESİ VE ANALİZ
SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Ahmed Murad Abid ALAIKHTARLU

Danışman: Prof. Dr. SEVİL DURDAĞI

FİZİK
ANABİLİM DALI

ERZİNCAN
2024
Her Hakkı Saklıdır.

Kabul ve Onay Sayfası

Prof. Dr. Sevil DURDAĞI danışmanlığında, Ahmed Murad Abid ALAKHTARLU tarafından hazırlanan bu çalışma 0.01.2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Fizik Anabilim Dalı Atom ve Molekül Fiziği Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

Başkan:	Prof. Dr. Yakup KURUCU	İmza :
Üye:	Prof. Dr. Paşa YALÇI	İmza :
Üye:	Prof. Dr. Sevil DURDAĞI	İmza :
Üye:	Prof. Dr. Fatih ÇOLDUR	İmza :
Üye:	Dr. Öğr. Üyesi Vael HAJAHMAD	İmza:

Yukarıdaki sonuç Enstitü Yönetim Kurulunun / / 20.... tarih ve/..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Doç. Dr. Kemal Volkan ÖZDOKUR
Enstitü Müdür V.

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, şekil ve tabloların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

Bilimsel Etięe Uygunluk Sayfası

FARKLI SPEKTROMETRİK TEKNİKLER KULLANARAK BÖBREK TAŞ TÜRRLERİNİN BELİRLENMESİ VE ANALİZ SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI isimli "Yüksek Lisans" tezim tarafımca intihal tespit programı ile incelenmiştir. Buna göre tezimde bilimsel etik ihlali ve intihal olarak nitelendirilebilecek herhangi bir durum olmadığını taahhüt ederim.

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir biçimde elde edildiğini; aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiğı gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi beyan ederim. 01.02.2024

Ahmed Murad Abid ALAIKHTARLU

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

FARKLI SPEKTROMETRİK TEKNİKLER KULLANARAK BÖBREK TAŞ TÜRLERİNİN BELİRLENMESİ VE ANALİZ SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Ahmed Murad Abid ALAIKHTARLU

Erzincan Binalı Yıldırım Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Fizik Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. SEVİL DURDAĞI

Böbrek taşı hastalığına (nefrolitiazis veya ürolitiazis olarak da bilinir), mineralize kristallerin böbrek kaliksleri ve pelviste birikmesi neden olurki bu birikintiler bir dizi olayla taşa dönüşür. Oluşan taşlar cerrahi işlemlerle veya tıbbi müdahalelerle tedavi edilmekle birlikte, tekrarlamanın önlenmesi ve özel tıbbi tedavi için taşın mineral türünün ve bileşiminin anlaşılması gereklidir. Kristal tutulması ve büyümesi; hyaluronik asit, osteopontin, renal tübüler epitel hücre yüzeylerinin bileşimi ve süperstarasyon gibi çeşitli faktörler tarafından yönetilir. Bununla birlikte bu faktörlerin ve diğer içsel fizyolojik ve metabolik faktörlerin etkileşimindeki farklılıklar, kristalleşme sürecini yönetebilir ve bileşimleri belirleyebilir. Taş matrisinin mikro yapısı taş türleri arasında farklılık gösterir ve mineral bileşimine göre belirlenebilir. Bileşim analizi taş oluşumundan sorumlu mineral türlerini ortaya çıkarır ve böbrek taşı matrisinin ultra yapısal incelemesi, patogeneze ilgili önemli bağlantılar olan ek ayrıntılar sağlar. Bu çalışmada farklı mineralojideki (saf ve karışık tip) böbrek taşlarının mikroyapısı ve mineral bileşenlerinin dağılımı analiz edilmiştir. Hastalardan çıkarılan taşlar Fourier dönüşümlü kızıl ötesi spektrometre (FT-IR), x-ışını kırınım spektrometresi (XRD), taramalı electron mikroskobu (SEM) ve bu mikroskoba bağlı enerji ayırmalı x-ışını spektrometresi (SEM-EDAX) kullanılarak incelenmiş olup mineral bileşimi belirlenmeye çalışılmıştır. Gözlemler benzer bileşime sahip böbrek taşlarının mikromorfolojisinde farklılıklar olduğunu ortaya çıkarmıştır. Otuz farklı taş arasındaki iç gözeneklilik ve mekansal varyasyon analizi yapılmıştır. Benzer ve farklı tipteki taşların mikroyapılarındaki çeşitlilik, taş oluşumunun karmaşık olduğunu ve hem fizyolojik hem de mikro çevresel faktörler tarafından yönetilebileceğini göstermiştir.

Şubat 2024, 126 Sayfa

Anahtar Kelimeler: Böbrek taşı, Böbrek taşı çeşitleri, Enerji ayırmalı x-ışını spektrometresi (EDX), Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR), Taramalı elektron mikroskobu (SEM), X-ışını kırınımı (XRD).

ABSTRACT

Master Thesis

DETERMINATION OF KIDNEY STONE TYPES USING DIFFERENT SPECTROMETRIC TECHNIQUES AND COMPARISON OF ANALYSIS RESULTS

Ahmed Murad Abid ALAIKHTARLU

Ercincan Binali Yıldırım University
Institute of Science
Department of Physics

Supervisor: Prof. Dr. SEVİL DURDAĞI

Kidney stone disease (also known as nephrolithiasis or urolithiasis) is caused by the deposition of mineralized crystals in the kidney calyces and pelvis, which turn into stones through a series of events. Although formed stones are treated with surgical procedures or medical interventions, it is necessary to understand the mineral type and composition of the stone to prevent recurrence and to provide special medical treatment. Crystal retention and growth; It is governed by various factors such as hyaluronic acid, osteopontin, composition of renal tubular epithelial cell surfaces, and superstarvation. However, differences in the interaction of these factors and other endogenous physiological and metabolic factors may govern the crystallization process and determine compositions. The microstructure of the stone matrix varies between stone types and can be determined by mineral composition. Compositional analysis reveals the mineral species responsible for stone formation, and ultrastructural examination of the kidney stone matrix provides additional details that are important links to pathogenesis. In this study, the microstructure and distribution of mineral components of kidney stones of different mineralogy (pure and mixed type) were analyzed. The stones removed from the patients were examined using Fourier transform infrared spectrometry (FT-IR), x-ray diffraction spectrometry (XRD), scanning electron microscope (SEM) and energy dispersive x-ray spectrometer (SEM-EDAX) connected to this microscope and its mineral composition was tried to be determined. Observations have revealed differences in the micromorphology of kidney stones with similar composition. Internal porosity and spatial variation analysis among thirty different stones was performed. The diversity in the microstructure of similar and different types of stones has shown that stone formation is complex and can be governed by both physiological and microenvironmental factors.

February 2024, 126 Pages

Keywords: Kidney stone, Kidney stone types, Energy dispersive x-ray spectrometry (EDX), Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), Scanning electron microscope (SEM), X-ray diffraction (XRD).

TEŞEKKÜR

Akademik hayatımın önemli parçalarından biri olan yüksek lisans tezimde benim yolumu aydınlatan ve bu yol boyunca yardımlarını esirgemeyen, çok değerli danışmanım Sayın Prof. Dr. Sevil DURDAĞI'na en kalbi duygularıyla teşekkür ederim.

Yüksek lisans tezim için burs veren Yurtdışı Türkler ve Akraba Topluluklar Başkanlığına teşekkürlerimi sunarım.

Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Mengücek Gazi Araştırma Hastanesi, Üroloji Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Ali Seydi BOZKURT'a, numunelerin teminindeki katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Tezimde desteğini esirgemeyen Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi-Temel bilimler araştırma laboratuvarı çalışanlarına teşekkür ederim.

Her sıkıntıda yanımda olan maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen çok kıymetli aileme müteşekirim.

Ahmed Murad Abid ALAIKHTARLU
Şubat, 2024

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜ.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
TABLolar LİSTESİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	4
3. KURAMSAL TEMELLER.....	12
3.1. Böbrek Taşı Nedir?	12
3.2. Böbrekler ve İdrar Yolu Nasıl Çalışır	12
3.3. Epidemiyoloji	13
3.4. Patofizyoloji	14
3.5. Böbrek Taşı Bileşenleri	14
3.6. Böbrek Taşı Oluşumunun Mekanizmaları	15
3.6.1. Kristal çekirdekleşmesi	16
3.6.2. Kristal büyümesi	16
3.6.3. Kristal birikimi	17
3.6.4. Kristal-Hücre etkileşimi	17
3.7. Böbrek Taşı Oluşumunun Genetik Temeli.....	18
3.8. Randall Plakları	19
3.9. Böbrek Taşı İnhibitörleri ve Teşvik Edicileri.....	21
3.10. Böbrek Taşlarının Türleri	22
3.10.1. Kalsiyum taşları: kalsiyum oksalat ve kalsiyum fosfat.....	22
3.10.2. Strüvit veya magnezyum amonyum fosfat taşları.....	23
3.10.3. Ürik asit taşları veya ürat taşları.....	24
3.10.4. Sistin taşları	24
3.10.5. İlaç kaynaklı taşlar	24
3.11. Böbrek taşlarının analizi için kullanılan teknikler	25
3.11.1. Islak kimyasal analiz	25

3.11.2. Termogravimetri.....	25
3.11.3. Polarizasyon mikroskopisi	26
3.11.4. Taramalı elektron mikroskopu	26
3.11.5. Spektroskopinin farklı teknikleri.....	27
3.11.6. Kızılötesi spektroskopi.....	27
3.11.7. Enerji ayırmalı X-Işını analizi (EDXRF).....	27
3.11.8. Lazerle oluşturulan kırılma spektroskopisi.....	28
3.11.9. Lazer ablasyon indüktif eşleşmeli plazma-kütle spektrometrisi	29
3.11.10. Atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS).....	29
3.11.11. Proton kaynaklı X-ışını emisyonu (PIXE)	30
3.11.12. Senkrotron radyasyonu (SR) kullanan X-ışını bilgisayarlı mikrotomografi (μ CT).....	31
3.11.13. X-ışını absorpsiyon yakın kenar spektroskopisi (XANES).....	31
3.11.14. Toz X-ışını difraksiyonu (XRD)	32
3.12. Böbrek Taş Oluşunu Önleme	32
3.12.1. Artan sıvı alımı ve diürezis	32
3.12.2. Yaşam tarzı ve alışkanlık değişiklikleri	33
3.12.3. Beslenme yönetimi	34
3.12.3.1. Kalsiyum alımı ve D vitamini takviyesi.....	34
3.12.3.2. Sodyum alımı.....	35
3.12.3.3. Oksalat alımı.....	36
3.12.3.4. Vitamin C alımı.....	37
3.12.3.5. Hayvansal ve bitkisel proteinler	37
3.12.3.6. Citrat alımı.....	38
4. MATERYAL ve YÖNTEM	39
4.1. X-Işını Kırınımı (XRD) Nedir?.....	39
4.2. X ışınlarının Madde ile Etkileşimi.....	40
4.3. X ışınlarının Üretilmesi.....	42
4.3.1. Giriş.....	42
4.3.2. Kapalı X-ışını tüpü.....	42
4.3.3. Sürekli (Beyaz) radyasyon.....	43
4.3.4. Karakteristik X ışınlarının üretimi.....	44
4.4. Kristalografik Terminolojiye Kısa Bir Giriş.....	47
4.4.1. Kristal yapı.....	47

4.4.2. Kristalin durum.....	48
4.4.3. Amorf durum.....	48
4.4.4. Karşılıklı kafes.....	48
4.4.5. Bravais kafesleri.....	49
4.4.6. Kristal sınıfları.....	50
4.4.7. Uzay grupları.....	50
4.5. Toz kırınım Grafiği.....	50
4.5.1. Giriş.....	50
4.5.2. Yansımaların konumu: Bragg yasası.....	51
4.5.3. Yansımaların yoğunluğu.....	51
4.6. X-ışını saçılma tekniklerine genel bakış.....	52
4.6.1. Tek kristal XRD.....	52
4.6.2. Toz kırınımı.....	52
4.6.3. Özel röntgen teknikleri.....	52
4.7. X-ışını ışın Yolundaki Optik Bileşenler.....	52
4.7.1. Genel gereklilikler.....	53
4.7.2. Bragg-Brentano geometrisi için yarık optikler.....	53
4.7.3. Optik modüller.....	54
4.8. Dedektörler.....	55
4.8.1. Dedektör tipleri.....	55
4.8.1.1. Nokta dedektörleri.....	55
4.8.1.1.1. Gaz orantılı sayaç.....	55
4.8.1.1.2. Sintilasyon sayacı.....	56
4.8.1.1.3. Hat dedektörleri.....	56
4.8.1.1.4. Alan dedektörleri.....	56
4.9. Taramalı Elektron Mikroskobu Nedir?.....	57
4.9.1. Mikroskopta neden ışık yerine elektronlar kullanılıyor?.....	57
4.9.2. Optik mikroskop ve taramalı elektron mikroskobu.....	59
4.9.3. Taramalı elektron mikroskobu nasıl çalışır?.....	60
4.9.4. Örnek-Elektron etkileşimleri.....	61
4.9.5. SEM'deki bileşenler.....	63
4.9.5.1. Elektron kaynağı.....	63
4.9.5.1.1. Tungsten (W) filaman.....	64

4.9.5.1.2. Lantan heksaborür (LaB6) veya seryum heksaborür (CeB6).....	64
4.9.5.1.3. Saha emisyon tabancası (FEG).....	64
4.9.5.2. Lensler.....	65
4.9.5.3. Tarama Bobini.....	65
4.9.5.4. Numune Odası.....	65
4.9.5.5. Dedektörler.....	66
4.9.5.5.1. Geri saçılan elektron dedektörü (BSD).....	66
4.9.5.5.2. İkincil elektron dedektörü (SED).....	67
4.9.5.6. Enerji dağınık spektroskopisi (EDS).....	67
4.10. IR Spektrumun Kökeni ve Karakteristikleri.....	68
4.10.1. İki atomlu moleküllerin titreşimleri.....	69
4.10.2. Kızılötesi spektrumu gözleme için gerekli koşul.....	70
4.10.3. Çok atomlu moleküllerin titreşimleri.....	70
4.10.4. Vibrasyon türleri.....	71
4.10.5. IR spektroskopisi için seçim kuralı.....	73
4.10.6. Çok atomlu moleküllerin IR spektrumunun doğası.....	74
4.10.7. IR spektrumunun zellikleri.....	75
4.11. SEM Quanta 450 FEG Cihazı.....	76
4.12. Malvern Empyrean XRD'nin 3. Nesil Kullanım Kılavuzu.....	80
4.13. Nicolet iS5 FT-IR Spectrometre.....	81
4.14. Numune Toplama ve Hazırlama.....	82
4.15. Etik Beyanı.....	84
5. ARAŞTIRMA ve BULGULAR.....	85
5.1.Taramalı Elektron Mikrokobu-Enerji Dağılımlı X-ışını Spektroskopisi (SEM-EDS).....	87
5.2. X-Işını Kırınım Spektrometresi (XRD).....	101
5.3. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopi (FT-IR).....	105
6. SONUÇ ve ÖNERİ.....	112
KAYNAKLAR	115

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 3.1. İdrar sisteminde böbrek taşı konumları.....	12
Şekil 3.2. Böbrek taşı oluşumunun çeşitli olaylarının şematik gösterimi	19
Şekil 3.3. İdrar kalsiyum atılımının belirleyicileri	23
Şekil 4.1. Bir kristal fazın ve bir amorf fazın varlığını gösteren tipik toz modeli.	40
Şekil 4.2. Seramik x-ışını tüpünün şematik çizimi (X’Pert tipi).....	43
Şekil 4.3. Karakteristik x-ışını radyasyonun üretimi.	45
Şekil 4.4. Kütle soğurma katsayısı ve foton enerjisi.....	46
Şekil 4.5. Ana çizgiler ve geçişleri.....	46
Şekil 4.6. Çeşitli hızlanma voltajları için toplam x-ışını spektrumu (Mo x-ışını tüpü) ..	47
Şekil 4.7. NaCl’nin kristal yapısı.	48
Şekil 4.8. 14 Bravais kafesinin grafiksel gösterimi.	49
Şekil 4.9. Bragg yasasının grafiksel gösterimi.....	51
Şekil 4.10. Farklı mikroskop türlerinin erişebildiği uzunluk ölçeklerinin karşılaştırılması.	59
Şekil 4.11. Nanoliflerin optik mikroskop görüntüsü ve 4000x’te taramalı elektron mikroskobu görüntüsü.....	60
Şekil 4.12. Taramalı elektron mikroskobunun şeması.....	61
Şekil 4.13. Elektron ışını etkileşiminin şeması.	62
Şekil 4.14. (a) Tungsten Filament Kaynağı (b) Katı hal kristal elektron kaynağı-Katı hal kristal elektron kaynağının Taramalı Elektron Mikroskobu görüntüsü (c) FEG Elektron Kaynağı.....	64
Şekil 4.15. Geri saçılan elektronların İkincil elektron üretimine karşı şematik diyagramı.	66
Şekil 4.16. Harmonik bir salınımın temsili.	69
Şekil 4.17. a. harmonik, b. anharmonik osilatör için potansiyel enerji eğrileri.	70
Şekil 4.18. a) Lineer ve b) lineer olmayan AB ₂ tipi üçatomlu molekülün uzama titreşim modları.....	72
Şekil 4.19. a) Lineer ve b) lineer olmayan AB ₂ tipi üçatomlu molekülün bükülme titreşim modları.	73
Şekil 4.20. Temel titreşim ve overtonlara karşılık gelen geçişler.....	74
Şekil 4.21. Temsilci bir IR spektrumu.	71
Şekil 4.22. Temel bilimler araştırma laboratuvarında bulunan Quanta 450 taramalı elektron spektrometresi (SEM).....	78

Şekil 4.23. Temel bilimler araştırma laboratuvarında bulunan 3. nesil malvern empyrean XRD cihazı.....	81
Şekil 4.24. Temel bilimler araştırma laboratuvarında bulunan Nicolet iS5 FT-IR spektrometre cihazı.....	82
Şekil 4.25. Toplanan böbrek taşlarının fotoğrafları.....	84
Şekil 5.1. SEM cihazından alınan bazı örneklerin farklı büyütme ölçeklerinde görüntüsü.....	90
Şekil 5.2. a,b,c,d. Bazı böbrek taşlarının EDAX görüntüleri.....	95
Şekil 5.3. Dört numunenin X-ışını kırınım desenleri arasındaki farklar.....	105
Şekil 5.4. 400-4000 cm ⁻¹ bölgesindeki böbrek taşı örneklerinin FTIR spektrumları ..	107



TABLÖLER LİSTESİ

Sayfa

Tablo 4.1. Toz kırınım grafiğinin bilgi içeriğine ilişkin genel araştırma.....	50
Tablo 5.1. Farklı taşların enerji dağılımlı spektroskopisi (EDS) kullanılarak tahmin edilen element bileşimi dağılımda çeşitlilik göstern tablo.....	98
Tablo 5.2. X-ışını kırınımıyla incelenen ve Rietveld iyileştirme yöntemi kullanılarak Match yazılımıyla hesaplanan bazı örneklerin nicelik hesaplamaları	104
Tablo 5.3. IR tanımlamaları ve bileşikleri ile birlikte FTIR spektroskopisi ile tespit edilen numunelerin karakteristik bantları	110



SİMGELER ve KISALTMALAR

Simgeler

e_1, e_2	Ligandların ve Merkez Atomun Elektron Negatiflikleri
A	Atom Yarıçapı
a, b, c	Kristal Yapı Ana Vektörleri
B	Etki Parametresi
C	Merkezi Atomun Koordinasyon Sayısı
D	Düzlemler Arası Uzaklık
I	Bağlı Metal Ligandın İyoniklik Değeri
$kcps$	Saniyedeki Kilo Sayımı
N	Katyonun Oksidasyon Durumu
q_p, q_s	Etkin Yükler
R	Dedektörün Ayırma Gücü
r, r_l	Katyonların ve Anyonların İyonik Yarıçapı
V	Ortalama Genişlik
W	Yarı maksimumdaki puls Genişliği
Z	Atom Numarası
ΔE	Enerji Kayması
N	Bileşiklerin Metal-Ligand Bağında Katyon Değeri

Kısaltmalar

AI	Asimetri İndeksi
AOS	Atomik Orbital
EDXRF	Enerji Ayrımlı X-Işını Spektrometresi
EXAFS	X-ışını İnce Yapı Absorbsiyon Spektrometresi
FTIR	Fourier İletim Kızılötesi
FWHM	Yarı Maksimumdaki Tam Genişlik
KA	Kristal Alan
MO	Moleküler Orbital
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans

PC	Gaz Orantılı Sayaç
PES	Fotoemisyon Spektroskopisi
PHA	Puls Yükseklik Analizörü
PIXE	Parçacık Kaynaklı X-ışını Emisyonu
QXRDA	Kantitatif XRD Analizi
R	Dedektör Rezölasyonu
SC	Işıldamalı (sintilasyon) Sayaç
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
SQX	Yazılım Paket Programı
TGA	Termogravimetri Analiz
U.A	Ürik asit
UAD	Ürik Asit Dihidrat
V	Ortalama Genişlik
VB	Valans Bağ
W	Yarı Maksimumdaki Puls Genişliği
WDXRF	Dalga Boyu Ayrımlı X-Işını Spektrometresi
XANES	X-Işını Absorpsiyon Soğurma Kıyı Yapıları
XES	X-ışını Emisyon Spektrometresi
XPS	Fotoelektron Spektrometresi
XRD	X-ışını difraksiyon
XRF	X-Işını Floresans Spektrometresi

1- GİRİŞ

Böbrek taşı tüm dünyada yaygın olarak görülen çoğu durumda hayati risk taşımayan, önemli morbiditeye ve ekonomik yüke neden olan yaygın bir hastalıktır. Gelişmiş ülkelerde idrar yolu taşlarının görülme sıklığı %4-20 arasında değişmektedir. Çocuklarda böbrek taşı oluşması da son yıllarda daha yaygın hale gelmiştir. Kimde böbrek taşı olabileceği konusunda ırk, cinsiyet ve etnik köken rol oynamaktadır. Beyazların böbrek taşına yakalanma olasılığı Afrikalı Amerikalılara veya diğer ırklara göre daha yüksektir. Erkekler kadınlardan daha sık böbrek taşı hastalığına yakalanmaktadır.

Böbrek taşları genellikle çok acı vericidir ve bazı insanlarda oluşma süreci devam edebilir. Böbrek taşı hastaları dünya genelinde her yıl doktora 2 milyondan fazla gitmekte ve acil servise 600.000'den fazla kez başvurumaktadırlar. Böbrek taşları zaman ve para açısından maliyetli bir sorun haline gelmektedir. İşten kaybedilen zaman nedeniyle böbrek taşlarının teşhisi, tedavisi ve önlenmesi her yıl neredeyse 5,3 milyar dolara mal olmaktadır.

Nefrolitiazis dünya çapında yaygındır ve sıklıkla zayıflatıcı, farklı etiyoloji ve patofizyolojiye sahiptir. Promotörün çokluğu ve inhibitörlerin yetersizliği böbrek tübüllerinde kristallerin üretimine ve tutulmasına neden olmaktadır. Böbrek taşları çoğunlukla kalsiyum oksalat tuzlarından oluşan kristal yapılardır. Bu iyonların konsantrasyonlarının yanı sıra hidrojen iyonları, sodyum iyonları ve ürik asit gibi çözünen maddelerin de varlığında da oluşurlar. Süzüntüde normalden daha yüksek miktarlarda bulunurlar. Bu durum aşırı doyma olarak bilinir ve aşırı doyma iyonların çözeltiden çıkıp kristalleşme olasılığı daha yüksektir. Aşırı doyma için risk faktörleri arasında dehidrasyon, yüksek yağlı diyet, hayvansal protein, yüksek tuz alımı ve obezite yer almaktadır.

Tipik olarak kristaller distal tübülde, nefron halkasında ve/veya toplama sisteminde oluşurlar. Çoğu kristal fark edilmeden idrara geçer. Ancak bazen kristaller özellikle toplama sisteminde tübüllerin epitelyumuna yapışır ve taş oluşumuna yol açan tohum kristalleri oluşturur. Taşlar toplama sisteminde kalabilir veya kırılıp kalikslere, renal pelvise ve üretere yerleşebilir.

Nefrolitiazis şiddetli ağrı ve lomber bölgeden kasık bölgesine yayılan renal kolikin ortaya çıkması ortak semptomlardan birkaçıdır. Diğer semptomlar arasında hematurî (idrarda kan), terleme, bulantı ve kusma yer alır. Nefrolitiazis bilgisayarlı tomografi taramaları ve intravenöz piyelogram dahil olmak üzere çeşitli yollarla teşhis edilebilir. Tüm taşlar benzer semptomları paylaşır ve taşın mineral fazına göre idrarın aşırı doygunluğu taş oluşumu için gereklidir.

Bununla birlikte taş oluşturan papiller biyopsilerin anlatıldığı son çalışmalarda; böbrekte kristal birikiminin histolojisi hakkında görüşler sunulmakta ve taş oluşumuna yol açan olayların erken safhasında taşın türüne, aşırı doygunluğuna ve idrar kimyasına bağlı olarak taşların büyük ölçüde farklılık gösterdiği ortaya konmuştur.

Böbrek taşı oluşumunda üç genel yol vardır: (1) idiyopatik kalsiyum oksalat taşı oluşturmalarında görüldüğü gibi interstisyel apatit plak (Randall plağı olarak adlandırılır) bölgelerinde böbrek papillasının yüzeyine sabitlenmiş taşlar (2) hiperoksalüri ve distal tübüler asidozda görüldüğü gibi Bellini kanallarının açıklıklarından çıkıntı yapan tıkaçlara bağlı taşlar ve (3) sistinüride olduğu gibi renal toplama sisteminde serbest solüsyon halinde taşların oluşması. Taş oluşumunda böbrek medullasının interstisyel veya tübül bölmesinde (ve bazen her ikisinde de) hidroksiapatit kristallerinin bulunması kuraldır ve taş oluşumunun ilk aşamaları ve böbrek hasarı potansiyeli açısından sonuçları vardır.

Böbrek taşları farklı tiplerde olup en yaygın olanı kalsiyum oksalat taşlarıdır. Çeşitli diyetler, diyet dışı bazı davranışlar ve idrar yapısı bu tipteki taşların oluşumuna katkıda bulunur. Sistemik hastalıklarla (hipertansiyon, diyabet ve obezite gibi) sıklıkla ilişkilendirilmeleri bunların ortaya çıkmasında, tekrarlamasında ve olası önlenmesinde diyet ve yaşam tarzı değişikliklerinin rolünü vurgulamaktadır. Kontrastsız bilgisayarlı tomografi (BT) ile hemen hemen her taş tipi tanımlanmakta olup tercih edilen inceleme biçimidir. Ultrasonun düşük maliyetli olması ve radyasyon gerektirmemesi değerlendirmede avantaj sağlasa da gözlemciye bağımlı olması bir dezavantajdır. Metabolik profil (kandaki kalsiyum, fosfat, magnezyum, kreatinin, ürik asit, sodyum ve potasyum dâhil) ölçülmeli ve ayrıntılı bir idrar tahlili yapılmalıdır.

Böbrek taşının etiyojisi çok faktörlüdür. Taş oluşumunun mekanizması; aşırı doygunluk, çekirdeklenme, büyüme, agregasyon ve üriner taş bileşenlerinin tübüler hücreler içinde tutulması gibi çeşitli fizikokimyasal olaylardan kaynaklanan karmaşık bir süreçtir. Bu adımlar idrar kristalleşmesini teşvik eden veya engelleyen faktörler arasındaki dengesizlik tarafından modüle edilir. Hücresel hasarın parçacıkların renal papiller yüzeylerde tutulmasını teşvik ettiği de belirtilmektedir. Şu anda böbrek taşının tekrar oluşmasını tedavi edecek ve/veya önleyecek tatmin edici bir ilaç mevcut değildir.

Hedefe yönelik tıbbi tedavi için ya da böbrek taşı hastalığının başarılı tedavisi için taşların çıkarıldıktan sonra doğru analiz yöntemleri ile değerlendirilmesinin gerekli olduğu konusunda artık giderek artan bir fikir birliği vardır. Doğru taş analizi ile birlikte kan ve idrar araştırmaları ile hastalığın olası nedenleri tanımlanabilir ve mantıksal tedavi stratejileri belirlenebilir. Taş analizi taş oluşumunda genel metabolik değerlendirmeye imkân verir. Kristal birikmesi sırasında idrar ortamının "biyokimyasal biyopsisi" olarak görülebilir ve böylece kristal oluşumuna yol açan risk faktörlerinin ve/veya spesifik hastalıkların tanımlanmasına olanak tanıyabilir. Dolayısıyla sistin gibi bir taş bileşeninin bulunması spesifik bir tanıya işaret edecektir. Kalsiyum oksalat ve kalsiyum fosfatın bulunması, kalsiyumun (birincil hiperparatiroidizm, hiperkalsiüri, renal tübüler asidoz) veya oksalatın (birincil hiperoksalüri, gastrointestinal bozukluklar) işlenmesi ve metabolizmasında bir takım bozuklukların olasılığını bildirecektir. Kalsiyum oksalat içeren taşlar başka bileşenlerle birlikte veya başka bileşenler olmadan, Avrupa toplumlarında taş hastalarında en yaygın görülen taş tipini temsil etmektedir. Bu tür taşların patogeneziyle sıklıkla ilişkilendirilen çok faktörlü doğa, hangi tedavinin temel alınacağına dair spesifik bilgi vermek için daha fazla araştırma yapılmasını gerektirir. Yani böbrek taşlarının yapısı doğru belirlenirse hastalar için doğrudan koruyucu önlemler alınabilir ve doğru tedavi kararlarının verilmesine yardımcı olabilir. Yeni taş oluşumlarında ve bazı tekrarlayan yüksek riskli taş oluşturan hastalarda, taş analizinin yapılmasının gerekliliği Avrupa Böbrek Ajansının (EAU) ve Amerikan Böbrek Ajansının (AUA) yayınladıkları kılavuzların bir parçasıdır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Böbrek taşı hastalığı dünya çapında insan sağlığını etkileyen yaygın bir hastalık haline gelmektedir. Ülkeler sanayileştikçe böbrek taşı hastaları ile daha çok karşılaşilmektedir. 1990'lerden bu yana böbrek taşı olan insanlar nüfusun %5'inden %10'una yükseldiği tespit edilmiştir. Bununla birlikte böbrek taşı üretiminin etiyojisi ve element davranışları hakkında hala cevaplanamayan sorular vardır. Genel olarak patolojik biyomineralizasyon böbrek taşlarına neden olmakta ve bunlar kalsiyum oksalat, kalsiyum fosfat ve ürik asit gibi bir veya daha fazla karmaşık bileşene de sahip olabilmektedir. Böbrek taşı üretimi ile ilişkili çeşitli süreçler vardır ve bunların tümü iyonik bileşenlerin aşırı doygun hale gelmesine ve belirli taşların oluşmasına neden olmaktadır. Bu nedenle böbrek taşlarını inceleyerek patofizyolojilerini anlamak, tedavi ve daha sonraki nüksleri önlemek için gereklidir.

2013 yılında yapılan sağlık araştırmasına göre idrar taşı hastalığının en yüksek yaygınlığı 55-64 yaş grubunda (%1,3) görülmektedir. 65-74 yaş grubunda azalma (%1,2) gözlemlenirken, ≥ 75 yaş grubunda görülme sıklığı (%1,1) daha azdır. Oluşan idrar taşı idrar sisteminde bazı sorunlara neden olmaktadır. Bu nedenle hastalığı tedavi etmek, önlemek ve taş oluşumunun tekrarlamasını engellemek için taşı çıkarmak çok önemlidir (Asyana vd., 2016). Batı ülkelerinde yaklaşık olarak erkeklerin %10-12'sini, kadınların %5-6'sını etkileyen yaygın bir hastalıktır. Coğrafya, iklim, diyet, sıvı alımı, genetik, cinsiyet, meslek ve yaş üriner sistem taş hastalığındaki farklılıkları oluşturan etkenlerdir (Sorokin vd., 2017).

Böbrek taşları yaklaşık olarak %90 mineral bileşenler ve %10 organik bileşenler içerir. Mineral bileşenler kalsiyum oksalat (CaOx) ve kalsiyum fosfat gibi kalsiyum taşları ile kalsiyum dışı taşları (örneğin strüvit, ürik asit, sistin, proteinler ve ilaç taşları gibi) içerir. Yaklaşık olarak nüfusun %1,7-14,8'i hayatlarının bir döneminde böbrek taşlarından etkilenir ve 5 yıl içinde tekrarlama oranı %40'tır. Semptomatik böbrek taşları olan hastaların tedavisi açık cerrahi litotomi'den minimal invaziv yaklaşımlara yani perkütan nefrolitotomi (PCNL), üreteroskopik litotripsi (URSL) ve şok dalgası litotripsisi (SWL) gibi yaklaşımlara evrilmiş olsa da bu yaklaşımlar hala invazivdir. Böbrek taşlarının yüksek görülme ve tekrarlama oranları göz önüne alındığında böbrek taşı oluşumunun

patogenezi kurmak ve böbrek taşı hastalığının ciddi oranını azaltan yeni endourolojik yaklaşımlar geliştirmek önemlidir (Maruyama vd., 2023). Taş oluşumunda görülen bu kristaller distal tübül, nefron döngüsü ve/veya toplama tübülünde oluşurlar ve şiddetli ağrı ve böbrek kolik gibi semptomlarla kendini gösterirler.

Nefrolityazis tüm coğrafi bölgeleri etkileyen küresel bir sorundur. Su ve gıda tüketimi böbrek taşlarının görülme sıklığı ile doğrudan ilişkilidir ve bu önemli bir konu olarak ayrıntılı bir şekilde tartışılmıştır. Böbrek taşı türüne bağlı olarak kaçınılması gereken gıdalar ve alınması gereken önlemler üzerinde durulmuştur. Ayrıca hayvanlarda nefrolityazis indüksiyonu için farklı deneysel modeller hakkında bilgiler sunulmuştur. Bu bozukluğun patofizyolojisinin anlaşılması yeni tedavi seçenekleri ve tedavilerin geliştirilmesi için zorunlu bir adımdır (Sohgaura vd., 2017).

Taş oluşumunun mekanizması taş bileşen kristallerinin nükleasyonunu içerir. Bunların büyümesi veya böbrek yapısıyla etkileşebilecek boyuta ulaşması böbrekte veya renal toplama sistemlerinde tutulması ve daha sonra klinik taşı oluşturmak için ek birikim ve/veya ikincil nükleasyon adımları gerçekleşir. Kristaller renal tübüler sıvıda veya bu bileşenlere göre doymuş olan renal interstisyel sıvıda oluşabilir ki bu da taş bileşen moleküllerinin artan salınımının, azalmış idrar hacminin, idrar pH'ının değişmesinin veya bu faktörlerin bir kombinasyonunun sonucu olabilir. Taş oluşturanların idrarı ve muhtemelen tübüler sıvısı normal sağlıklı yetişkinlerin idrarından daha yüksek derecede doymuş olabilir. Bu da kristallerin nükleasyonunu ve büyümesini teşvik eder. Klinik taşı oluşturmak için uzun süreli olarak ek elementlerin kristalin yanı sıra organik matrisin birikimi meydana gelir. Taş kimyasal bileşenlerinin taş oluşturan bireylerde daha yüksek derecede doymuş olmasından sorumlu mekanizmalar taş türüne bağlı olarak farklılık gösterebilir ancak genellikle aşırı düşük idrar hacmi mevcuttur. Unutmamak gerekir ki taş oluşumunun fiziksel kimyasının ve oluşumunun altında yatan tek bir anormallik bulunmamıştır. Birçok taş oluşturanın idrarlarının (veya tübüler sıvısının) taş bileşenlerini daha düşük doyma düzeylerinde nükleasyon yapma, oluşturulan kristallerin hızlı büyümesini destekleme veya kristallerin birbirine yapışmasına (birikme) veya bazı böbrek yapısına yapışmasına izin veren tanımlanabilir anormallikler bulunmaktadır. Bu bağlamda "idrar" ifadesi kullanıldığında tartışılan süreçlerin gerçekleştiği nefronun kritik bir noktasında tübüler sıvıyı kapsadığı anlaşılır (Ratkalkar vd., 2011).

Birçok araştırma grubu hastalığın patogenezi açıklığa kavuşturmak için böbrek taşlarındaki kristal fazları ve proteinleri tanımlamaya çalışmıştır. Önceki çalışmaların çoğunda incelenen böbrek taşları parçalanmış ve toz haline getirilmiştir. Böbrek taşlarında bulunan kristal fazlar ve organik maddeler Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR), Raman spektroskopisi, enerji dağılımlı x-ışını spektrometresi (EDXRF), kütle spektroskopisi (MS) ve diğer yöntemler kullanılarak tanımlanmıştır. Böbrek taşlarının dilim kesitleri ve cilalı ince kesitleri kullanarak kristal fazları ve kristal dokusu sınıflandırmalarını tanımlanabilmiştir (Maruyama vd., 2023).

Böbrek taşlarının kesilmiş kesitleri veya cilalı ince kesitlerinin optik mikroskopi ile gözlemlenmesi 70 yılı aşkın bir süredir yapılmaktadır. Bununla birlikte organik ve inorganik maddeler için tamamlayıcı analiz teknolojisi konusunda sorunlar ve sınırlamalar nedeni ile böbrek taşlarının oluşum mekanizmaları yeterince aydınlatılamamıştır (Maruyama vd., 2023).

Yapılacak analizler böbrek taşların tedavisi ve profilaksisi açısından büyük öneme sahiptir. Taşın kimyasal bileşenlerinin ve yapısının doğru belirlenmesi hastalığın temel nedenini bulmayı, tedaviyi reçete etmeyi ve nüksleri önlemeyi sağlar. Kimyasal bileşenleri hakkında bilgi böbrek taşı hastalığının başarılı tedavisi için kritik öneme sahiptir çünkü oluşumunun geçmişi hakkında ek bilgiler sağlar. Ne yazık ki idrar kimyasını izlemek için kullanılan geleneksel 24 saatlik idrar testleri oldukça karmaşıktır ve kesin değildir. Ayrıca nüksleri önlemek için hastaların hastanede uzun süre kalması gerektiğinden sürekli takip gerekmektedir ki bu da genellikle mümkün değildir. Alternatif olarak vücuttan çıkarılan taşların nicel ve nitel analizi, böbrek taşı hastalığının tedavisi için çok değerli yöntemler olabilir (Singh vd., 2017).

Taş oluşumunda yer alan patolojik koşulların belirlenmesi yapının dikkatli bir şekilde incelenmesine ve ayrıca idrar taşlarının kalitatif ve kantitatif kristal bileşiminin tanımlanmasına dayanmalıdır. Kristal yapısı ve bileşimi ile ilgili bilgiler farklı fiziksel yöntem kullanılarak bulunabilir. Böbrek taşlarının bileşenleri farklı analitik tekniklerle sınıflandırılabilir: Örneğin ıslak kimyasal yöntemler veya kristalografi yöntemleri, termal analiz ve Fourier dönüşümü kızılötesi (FT-IR) veya Raman spektroskopisi gibi enstrümantal teknikler. Kimyasal yöntemler zaman zaman yanlış pozitif veya yanlış negatif sonuçlar verdiği için karşılaştırmaları hatalıdır. X-ışını difraksiyonu, böbrek

taşlarının bileşenlerini nitelendirmek için yaygın olarak kullanılsa da Ahmed (2022) karbapatit veya strüvit gibi amorf türleri karakterize edemez. Kızılötesi spektroskopi (FT-IR) böbrek taşlarının bileşimi hakkında hızlı bilgilere ulaşılabilecek başka bir uygun analitik tekniktir (Singh vd., 2017; Hannan, 2023).

Khaskheli vd., (2012) yaptıkları çalışmada ameliyattan sonra topladıkları 17 örnek (5 kadın ve 12 erkek; yaş aralığı 2 ila 60 yıl) böbrek taşının bileşimlerini Fourier dönüşümlü kızılötesi (FT-IR) spektroskopisi ile analiz etmişlerdir. İncelenen 17 böbrek taşı örneğinin %29,4 kalsiyum oksalat, %29,4 ürik asit, %29,4 kalsiyum oksalat-ürük asit, %5,9 fosfat ve %5,9 kalsiyum oksalat-fosfat tipi taşlar olduğunu bulmuşlardır. Çalışmalarının sonucunda FT-IR spektroskopisinin böbrek taşlarının hızlı analizi için uygun bir teknik olduğunu göstermişlerdir.

Fiziksel-kimyasal veya mineralojik araştırma teknikler idrar taşlarının kompozisyonunu belirlemede giderek artan bir hızla kullanılmaktadır. Kızılötesi spektroskopi incelemesi cerrahi olarak çıkarılan taşların kalitatif kompozisyonlarını bulmamızı sağlar. Spektrumların değerlendirilmesinde bilgisayar programı kullanılarak, ürolitiyazis tipleri kolaylıkla tanımlanabilir. İdrar taşlarında bulunan bileşikler organik yapıda (oksalik asit, ürik asit, ksantin, sistin, kolesterol) ve/veya inorganik yapıda (fosfatlar, karbonatlar) olabilir.

Chatterjee vd. (2018) insan böbrek taşlarının faz bileşimini ve morfolojik karakterizasyonunu incelemeye IR spektroskopisi, taramalı elektron mikroskopi ve x-ışını Rietveld analiz yöntemlerini kullanmış ve idrar taşlarının mikron altı seviyedeki kantitatif faz bileşimini analiz etmişlerdir. Bir başka çalışmada ise Sofińska-Chmiel vd. (2023) böbrek taşlarının kimyasal bileşiminin analizi, yapısal karakterizasyonu ve faz miktarının tespiti üzerine odaklanmışlardır. Böbrek taşlarının kimyasal bileşimi kızılötesi spektroskopi (FTIR) ve taramalı elektron mikroskop ile EDX detektörü (SEM-EDX) ile çalışmalarını yapmışlardır. Faz değişimini x-ışını kırınımı spektrometresini (XRD) kullanılarak incelemişlerdir. Böbrek taşlarının kimyasal yapısı hakkında daha iyi bir bilgi edinmek için x-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS) ile de çalışmalarını gerçekleştirmişlerdir. Böbrek taşlarının yapısını oluşturan kimyasal bileşenlerin dağılımını belirleyebilmek için FTIR mikroskopisi ile kimyasal haritalama yapılmıştır.

Literatüre bakıldığında böbrek taşlarının Raman spektroskopisi ile incelendiği çok sayıda çalışma bulmak mümkündür. Raman spektroskopisi titreşen ve dönen moleküllerin saçılmasını ölçerken FTIR mikroskopisi ile bu moleküllerin absorpsiyonu değerlendirilebilmektedir. Genel olarak her iki yöntemde benzer ve birbirini tamamlayan tekniklerdir. Ancak avantajları ve dezavantajları vardır. Yapacağımız bu çalışmada Raman spektroskopisinin olası flüoresans etki gibi sınırlamalarından kaçınmak için FTIR spektroskopisini kullanılacaktır. Ayrıca Raman spektroskopisinde saçılma spektrumlarını gizleyebilen veya Raman spektrumlarını örtbas edebilen, istenmeyen yoğun lazer radyasyonundan ve ısınmasının neden olabileceği bazı sınırlamalardan kaçınmak için FT-IR spektroskopisi kullanılacaktır.

Uvarov vd. (2011) İsrail'deki Hadassah Hebrew Üniversitesi Hastanesi Üroloji Bölümü'nde yaptıkları çalışmada tedavi gören 275 hastanın böbrek taşları üzerinde nicel x-ışını kırınımı faz analizi gerçekleştirmişlerdir. Çok bileşenli numunelerdeki biyominerallerin incelenmesi normalize edilmiş referans yoğunluk oranı yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Gözlemlenen faz bileşimlerine göre test edilen tüm taşlar beş kimyasal gruba ayrılmıştır: oksalatlar (%43.2), fosfatlar (%7.7), üratlar (%10.3), sistinler (%2.9) ve farklı minerallerin karışımından oluşan taşlar (%35.9). Her kimyasal gruba ait ayrıntılı bir analiz sunulmuş ve gözlemlenen kristalin fazları için kristal büyüklüğü hesaplamaları yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar farklı coğrafi bölgelerde yayınlanmış verilerle karşılaştırılmıştır. Böbrek taşlarında tanımlanan fazların morfolojisi ve uzamsal dağılımı, taramalı elektron mikroskopi (SEM) ve enerji dağılımlı x-ışını spektroskopisi (EDS) ile incelenmiştir. Bu tür ayrıntılı faz kompozisyonu ve yapısal özelliklerin çalışması İsrail'de ilk kez gerçekleştirilmiştir.

Maruyama vd., (2023) yaptıkları çalışmada özellikle kalsiyum oksalat monohidrat (COM) ve dihidratın (COD) nicel tanımlamasına odaklanarak, mikrometre düzeyinde kalsiyum oksalat (CaOx) böbrek taşlarını tanımlamayı ve nicel olarak analiz etmeyi amaçlamışlardır. Fourier dönüşümü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi, toz x-ışını difraksiyonu (PXRD) ve mikro odaklı x-ışını bilgisayarlı tomografi ölçümleri (mikro odaklı x-ışını BT) gerçekleştirmişler ve sonuçlarını karşılaştırmışlardır. Böbrek taşlarının ince kesitlerine mikroskobik FTIR uygulayarak ve toplu örnekler için mikro odaklı x-ışını BT sistemi uygulayarak, 50 μm^2 alanlarda COM/COD'un nicel analizini

başarmışlardır. Mikro-örneklemelerle yapılan PXRD ölçümlerine dayalı analiz sonuçları, ince kesitlerin mikroskobik FTIR analizi ve toplu böbrek taşı örneğinin mikro odaklı x-ışın BT gözlemi gibi üç yöntemin birbirinin tamamlayıcı teknikleri olarak kullanılabileceğini göstermişlerdir. Bu nicel analiz yöntemi taş yüzeyindeki ayrıntılı CaOx bileşimini değerlendirerek ve taş oluşum süreçleri hakkında bilgi edinmişlerdir. Bu bilgi kristal fazın nerede ve hangi aşamada nükleasyon yaptığını, kristallerin nasıl büyüdüğünü ve metastabil fazdan kararlı faza geçişin nasıl ilerlediğini açıklamada faydalı olmuştur. Faz geçişi böbrek taşlarının büyüme hızını ve sertliğini etkilerken böbrek taşı oluşum süreci hakkında önemli ipuçları sağlamaktadır.

Böbrek taşlarının mineral dağılımının ayrıntılı bilgisine sahip olmak böbrek taşlarının oluşum süreci dâhil böbrek taşlarının patogenezi aydınlatmak için gereklidir. Castiglione ve arkadaşları bir konfokal Raman mikrospektrofotometresi kullanarak böbrek taşlarının kimyasal görüntülemesini incelemişlerdir ve CaOx ve kalsiyum fosfatların kristal polimorfizmleri dâhil böbrek taşı bileşenlerini tanımayı başarmışlardır. Bu yöntem taşların içindeki bileşenlerin düzenini belirlemede yardımcı olmakta ancak birçok sınırlamaya da sahiptir. Yüksek protein konsantrasyonu içeren bir böbrek taşı tanımlamak böbrek taşlarının yoğun otofloresans arka planı nedeniyle zordur ve her bileşenin miktarının belirlenmesi bir zorluk teşkil etmektedir.

FTIR ile CaOx fazlarının nicel analizi açıklanmış ve böbrek taşlarının toplu analizi için güvenilir bir yöntem önerilmiştir CaOx'un dört yarı-polimorfu vardır(Maurice-Esteva vd., 2000): kalsiyum oksalat anhidrat, kalsiyum oksalat monohidrat (COM), kalsiyum oksalat dihidrat (COD) ve kalsiyum oksalat trihidrat (COT) (Daudon vd., 1993). COM ve COD genellikle böbrek taşlarında bulunmakta ve COT ise nadir bulunmaktadır (Daudon vd., 2016). İdrarda COM termodinamik olarak stabil bir fazdır ve COD metastabil bir fazdır (COM'dan daha çözünürdür) (Streit vd., 1998). Potasyum bromür (KBr) pellet tekniği ve zayıflatılmış toplam yansıma (ATR) yöntemi küçük miktarlarda toz örneklerin ölçülmesini sağlamıştır. Ancak böbrek taşının bir bölümünün toz haline getirilmesi gibi invazif örnek hazırlığı gerektirmektedir. Blanco ve arkadaşları böbrek taşı ince kesitlerini kullanarak FTIR spektroskopisi ile COM, COD ve karbonat apatit (CAP) haritalamasını rapor etmişlerdir (Blanco vd., 2015). Bu iki pikin bazı diğer bileşenlerden etkilendiği ve

bu iki pikin temel alınan kristal faz haritalamasının yanlış sonuçlara yol açabileceği için COM ve COD'un nicel analizi için özel piklere odaklanmışlardır.

Yoshioka vd., (1996), daha güvenilir bir COM ve COD faz belirleme yöntemi tanımlamışlardır. Yaptıkları çalışmada diğer kristal bileşenlerine nazaran etkilenmeyen 780 cm^{-1} pikine odaklanmışlar ve COM ve COD'un kızılötesi (IR) emilimini hesaplamışlardır (Yoshioka vd., 1996). Ancak bu analiz yöntemini toz örnek ölçümü için geliştirilmiş olup mikroskopik FTIR ölçümü için genişletmemişlerdir.

Maruyama vd., (2023) yaptıkları çalışmada mikrometre düzeyinde CaOx böbrek taşlarını tanımlamayı ve nicel olarak analiz etmeyi amaçlamışlardır. İlk olarak en yaygın kalsiyum oksalat esaslı taşlar hedeflemişler, COM ve COD'un bölgesel nicel analizini gerçekleştirmişlerdir. Böbrek taşları Nagoya City Üniversitesi'ndeki hastalardan toplanmış ve birkaç ince kesit ve cilalı toplu örnek hazırlamışlardır. Polarize ışık mikroskopisi ve FTIR yerel noktaların kristal yapı analizi ve faz tanımlaması için kullanılmıştır. FTIR spektrumları analiz edilip açıklanmıştır (Yoshioka vd., 1996). Ayrıca ince kesitlerden toplanan toz örneklerin küçük miktarları için toz x-ışını difraksiyon (PXRD) ölçümleri gerçekleştirilmiştir. PXRD ve FTIR sonuçlarını karşılaştırarak güvenilir bir ölçüm prosedürü oluşturulmuş, COM ve COD'un nicel analizi için bir böbrek taşı dilimlenmiş toplu örneğini bir mikro odaklı x-ışını BT sistemi kullanarak analiz edilmiştir. Bu üç analiz yönteminden elde edilen böbrek taşı örneklerinin nicel analiz sonuçlarının tutarlı olduğu bulunmuştur. Geliştirilen CaOx polimorf nicel ölçüm prosedürleri, böbrek taşlarını daha ayrıntılı bir şekilde araştırmalarına olanak tanımıştır. CaOx polimorfizmalarının in vivo olarak aydınlatılması böbrek taşı oluşum sürecini anlamak için önem taşımakta olup insan böbrek taşlarındaki çoklu proteinlerin görselleştirilmesi ile birleştirilmiş nicel ölçümler kullanılarak gelecekteki araştırmalarda böbrek taşı oluşum süreçlerini daha da iyi anlamamızı sağlayacaktır (Tanaka vd., 2021).

Bu çalışma Kohort araştırması (prospektif veya retrospektif) (İnsidans araştırmaları) ve Deneyisel Araştırma tipinde bir çalışma olup araştırma Erzincan Üniversitesi Mengücek Gazi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Fen Edebiyat Fakültesi, Fizik Bölümü ve Temel Bilimler Uygulama ve Araştırma Merkezinde yapılacaktır. Böbrek taşlarının cerrahi müdahale ile alınmasının ardından spektrometrik olarak incelenmesi yapılacaktır. Farklı spektroskopiler ile inceleme yapılacak ana ve iz

elementler tespit edilip sonuçlar karşılaştırılacaktır. Araştırmada farklı türden böbrek taşlarının toplanması hedeflenmekte olup uzun soluklu bir çalışmadır. Bu çalışmada Erzincan ili ve çevresinde ikamet eden hastalardan alınan örnekler Erzincan Üniversitesi Mengücek Gazi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji polikliniği tarafından Merkezi Araştırma Laboratuvarı Analiz Birimine yönlendirilerek ve analizleri yapılacaktır.

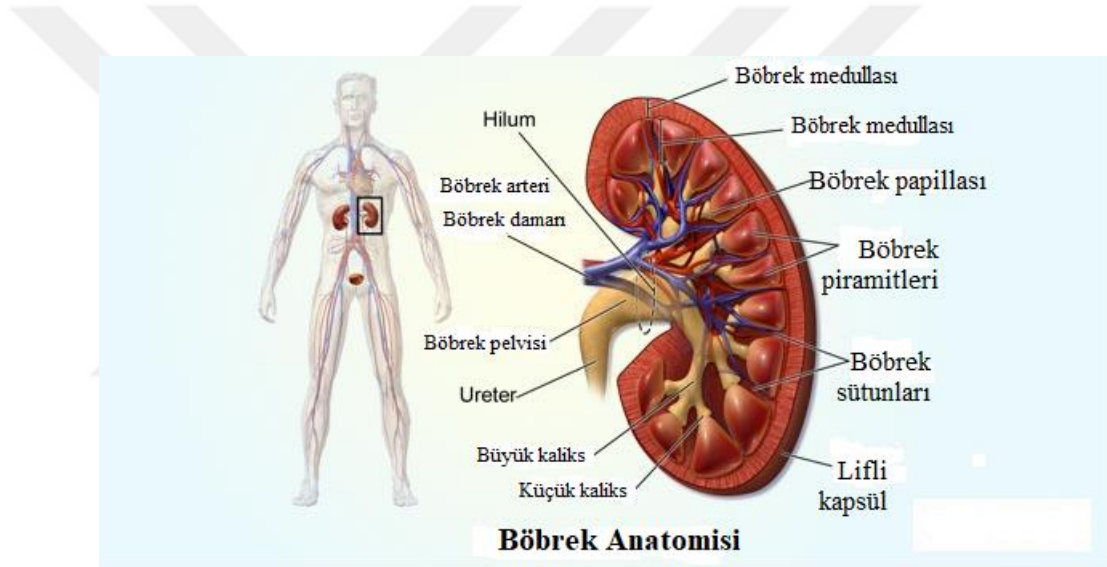
Böbrek taşlarının analizi için elverişli birçok farklı yöntem ve spektroskopik teknik olduğunu söyleyebiliriz. Ayrıca faydalı sonuçlar elde etmek için bir böbrek taşının farklı alanlarının ayrı ayrı analiz edilmesi gerektiği de yaygın olarak kabul edilmiştir. Majör ve eser elementler böbrek taşı oluşumunda önemli rol oynadığından ayrıca taşın büyümesini ve dolayısıyla böbrek taşının farklı bölümlerinin elemental analizini doğru verebilmek için taşın farklı kesitlerinden ölçümler almak faydalı olacaktır. Bu nedenle böbrek taşının farklı bölümlerinin elemental ve moleküler düzeyde ayrı ayrı incelenmesi büyük önem taşımaktadır.

Farklı spektrometrik teknikler kullanarak böbrek taşlarında ana ve iz element analiz sonuçlarının karşılaştırılması biyo-mineralizasyon süreçleri hakkında temel bilgiler sağlayabilir. İdrar taşlarının oluşumunun altında yatan çeşitli bozukluklar veya hastalıklar olabilir. Taşa özgü tedaviyi sunmak, taş oluşumunun etiyolojisini ortaya çıkarmak, nüksü önlemek, bireyselleştirilmiş tedaviyi sağlamak için üriner taş bileşenleri hakkında bilgi sahibi olmak önemlidir. Taş hastalığının temel değerlendirmesinde ise böbrek taşı analizi önerilmektedir. Bu çalışmada SEM, XRD ve FTIR gibi spektroskopik teknikler tedaviyi doğru bir şekilde yönlendirebilmek için, taşın bileşimindeki hem ana hem de eser elementler hakkında doğru bilgiler alabileceğimizi düşünerek seçilmiştir. Kızılötesi spektroskopi bu yöntemlerden en sık başvurulanı olup analiz spektroskopileri cerrahi olarak çıkarılan veya kendiliğinden düşen taşların kalitatif kompozisyonlarını bulmamızı sağlar. Taş bileşimi ve yapısının yanısıra kristalleşme sürecine yol açan geçmiş koşullar dolayısıyla etiyoloji hakkında da bilgi sağlayabilir. Bu çalışma ile Erzincan ve çevresindeki ürolitiazis paterni hakkında önemli bilgilerin sağlanması hedeflenmektedir.

3. KURAMSAL TEMELLER

3.1. Böbrek Taşı Nedir?

Taşlar idrarda bazı mineral ve tuzların yüksek seviyelere ulaşması durumunda oluşabilir. Bazı böbrek taşları başlangıçta küçük olup herhangi bir soruna neden olmazken bazıları da daha büyük boyutlara ulaşp böbreğin iç yapısını doldurabilir. Bazı taşlar ise böbrekte kalıp hiçbir soruna yol açmazken bazen de üreter boyunca aşağı doğru hareket edebilir. (üreter böbrek ile mesane arasındaki tüptür.) Taş mesaneye ulaştığında idrar yoluyla vücuttan atılabilir. Ancak taş üreterde sıkışırsa bu böbrekten idrar akışını engeller ki bu durum ağrılı bir süreç olabilir.



Şekil 3.1. İdrar sisteminde böbrek taşı konumları

3.2. Böbrekler ve İdrar Yolu Nasıl Çalışır

Böbrekler vücudun sıvı ve kimyasal seviyelerini düzenleyen ceviz büyüklüğünde organlardır. Çoğu insanın iki böbreği olup karaciğer, mide, pankreas ve bağırsakların arkasında omurganın her iki tarafında bulunurlar. Sağlıklı böbrekler kanın içindeki atığı temizleyip idrar yoluyla vücuttan uzaklaştırırlar.

Böbrekleriniz sağlıklı olduğunda kandaki sodyum, potasyum ve kalsiyum seviyelerini düzgün bir şekilde kontrol ederler. Böbrekler (üreterler ve mesane) idrar yolu sisteminizin bir parçası olup idrar yolu sistemi vücutta idrar yapar, taşır ve depolar. Böbrekler su ve

vücudun atıklarından idrar yapar ki idrar daha sonra üreterler boyunca mesaneye yol alıp burada depolanır. İdrar üretran aracılığıyla vücudu terk eder.

Böbrek taşları böbrekte oluşur. Eğer bir taş böbrekten ayrılır ve üreterde sıkışırsa buna üreter taşı denir. Böbrek taşlarının yaygın belirtileri arasında sırt ve yan tarafta keskin ve sancılı bir ağrı bulunur. Bu his genellikle alt karın veya kasık bölgesine doğru yayılır. Ağrı genellikle aniden başlar ve dalgalı bir şekilde gelir. Vücut taşı atmak için uğraştıkça artar veya azalabilir. Böbrek taşlarının diğer belirtileri ise şunlardır:

- 1- İdrar yapma ihtiyacının yoğun bir şekilde hissedilmesi.
- 2- İdrar yaparken daha sık yanma hissi.
- 3- İdrardaki kan nedeniyle idrarın normalden koyu veya kırmızı olması (Bazen idrarla çıplak gözle görülemeyen küçük miktarda kırmızı kan hücresi bulunabilir).
- 4- Mide bulantısı ve kusma.

3.3. Epidemiyoloji

Böbrek taşları her yaşta meydana gelebilir ki en yüksek insidans 20-49 yaş aralığındaki kişilerde bildirilmiştir. Erkekler kadınlardan daha fazla etkilenmektedir. Sanayileşmiş dünyada üriner sistem taşlarının yaygınlığı %4 ila %20 arasında değişmektedir. İtalya’da üriner sistem taşlarının yaygınlığı %1,2 olarak bildirilmişken, İskoçya’da %3,5 ve İspanya’da %10,0 olarak saptanmıştır. Grönland ve Japonya’nın sahil bölgelerinde nadir saptanmıştır. ABD’de ise nefrolityazın yaygınlığı erkeklerde %10,6 ve kadınlarda %7,1’dir. (REF) Ortalama olarak 11 Amerikalıdan birinin hayatlarının en az bir döneminde böbrek taşı geliştirdiği bildirilmiştir. Gelişmekte olan ülkelerde mesane taşları üst üriner sistem taşlarından daha yaygın olup bu durum gelişmiş ülkelerde tam tersi biçimde raporlandırılmıştır. Küresel ısınmanın etkileri sonucu böbrek taşlarının insidansının 2050 yılına kadar %40’tan %56’ya çıkabileceği tahmin edilmektedir.

Böbrek taşları obez ve şeker hastası bireyler arasında yaygın olup tekrarlama oranı yüksektir ve başlangıçta taş olayının ardından 5 yıl içinde %50’si kendini tekrarlar. Tekrarlayan taş oluşturan bireylerde taş oluşumunun hızlanmasını belirleyen faktörler iyi bilinmemektedir. Bu nedenle taş oluşturan hangi hastada nüksün olabileceği önceden

tahmin edilemez ancak taş hastalığının doğal seyri ve yüksek tekrarlama oranı, dikkatli bir tanı değerlendirmesi ve erken tedavi gerektirir.

3.4. Patofizyoloji

Böbrek taşları idrardaki çözünmeyen tuzlardan oluşur ve oluşum sürecinde iki temel mekanizma bulunmaktadır. İlk mekanizma kristallerin bir kristal olmayan protein (matris) bileşeni ile bir araya gelmesidir. İdrardaki tuzlar çöker ve kristalleşir, kristalleri bir araya getirir ve klinik belirtilere neden olacak kadar büyümelerine yol açar. İkinci mekanizma da ise genellikle kalsiyum oksalat taşlarının sorumlu olduğu, taş malzemesi renal papiller kalsiyum fosfat nidusu üzerine çöker ve sonucunda tipik olarak Randall plak (her zaman kalsiyum fosfat içeren) oluşur. Taşların çoğunluğu kalsiyum oksalat ve kalsiyum fosfatın dâhil olduğu kalsiyum tuzlarıdır. Ürik asit, sistin ve magnezyum amonyum fosfat (strüvit) ise taşların geri kalanlarıdır.

3.5. Böbrek Taşı Bileşenleri

Üriner taşların kimyasal bileşimleri kristalli ve kristalsiz fazları veya organik malzemeyi (matrisi) içerir. Üriner taşların organik matrisi glikozaminoglikanlar (GAG'lar), lipitler, karbonhidratlar ve proteinler gibi makromoleküllerden oluşur. Bu moleküller böbrek taşı gelişimi süreçlerini teşvik ederek veya engelleyerek oluşum esnasında önemli bir rol oynar. Taş matrisinin başlıca bileşenleri şunlardır: proteinler (%64), amino olmayan şekerler (%9,6), glukozamin olarak heksozamin (%5), su (%10) ve inorganik kül (%10,4). Matris böbrek taşlarının montajına katılarak şablon görevi görür. Tüm taşların matrisi toplam lipidin %8,6'sını temsil eden fosfolipitleri içerir ve bu da taş matrisinin yaklaşık %10,3'ünü temsil eder. Organik matrisin bir parçası olarak hücre zarı fosfolipitler, kalsiyum oksalat ve kalsiyum fosfat taşlarının oluşumundan sorumludur (Aggarwal vd., 2013). Tüm taş türlerinin matrisinin başlıca bileşeni albumindir.

Brushit taşı artan bir insidans hızına sahip sert fosfat mineralidir ve kalsiyum fosfat (CaP) hastalarının dörtte biri brushit içeren taşlar oluşturur (Krambeck vd., 2010). Üriner sistemde CaP, hidroksiapatit, karbonat apatit veya brushit (kalsiyum monohidrojen fosfat

dihidrat, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) şeklinde bulunabilir. Brushit şok dalga ve ultrasonik lityotripsi tedavisine karşı dirençlidir (Krambeck vd., 2010).

3.6. Böbrek Taşı Oluşumunun Mekanizmaları

Böbrek taşı veya biyomineralizasyonun patogenezi hala tam olarak anlaşılmayan karmaşık bir biyokimyasal süreçtir. Böbrek taşı oluşumu idrarın fizikokimyasal değişiklikleri ve doymuşlukla ilgili biyolojik bir süreçtir. Çözelti tipik şartlarda çözünebilecek kadar fazla madde içeren bir sıvıyı ifade eder. Doymuşluk sonucunda çözünmüş maddeler idrarda çöker, çekirdekleşme meydana gelir ve ardından kristal birikintileri oluşur. Yani kristalleşme iki iyonun çözeltideki doymuşluk noktalarını aştığında gerçekleşir (Parmar, 2004). Bir sıvının katı faz haline dönüşümü pH ve fazla maddelerin konsantrasyonlarından etkilenir. Böbrek taşlarının oluşumuna neden olan kalsiyum, fosfor, ürik asit, oksalat, sistin gibi taş oluşturan bileşenlerin doymuşluk derecesi ve düşük idrar hacmi gibi risk faktörleri kristalleşme için önemlidir (Giannossi ve Summa, 2012). Dolayısıyla kristalleşme süreci doymuş bir çözeltinin (çekirdekleşmeye yol açan) termodinamiğine ve çekirdekleşme (veya kristal büyümesinin) hızlarından oluşan kinetiğine bağlıdır (Kok vd., 1990). Bu nedenle taş oluşumu doymuşluktan kaçınarak önlenebilir.

Ancak taş oluşumunun genellikle idrarın inhibitörler ve kristalleşmeyi teşvik eden maddeler arasındaki dengesizlik seviyesine bağlı olduğu unutulmamalıdır. Tüm taşlar taş oluşumunun mineral aşaması açısından benzer olayları paylaşırlar. Ancak taş oluşumuna yol açan olayların sıralanışı taş türü ve idrar kimyasına bağlı olarak farklılık gösterir. Örneğin kalsiyum esaslı taşların (kalsiyum oksalat veya kalsiyum fosfat) kristalleşmesi inhibitör konsantrasyonları düşükse idrarın doymuş olması durumunda meydana gelir. Ürik asit kalsiyum oksalatın çözünürlüğünü etkilemekte ve CaOx taş oluşumunu teşvik etmektedir. Sağlıklı kontrol grubunu oluşturan kişilerde, kristalleşme süreci inhibitör maddeler tarafından engellenir ve güvende olur (Giannossi ve Summa, 2012). Taş oluşumunu tetikleyen olayların sıralanışı; çekirdekleşme, büyüme, birikme ve böbreklerde kristal tutulmasını içerir.

3.6.1. Kristal Çekirdekleşmesi

Böbrek taşı oluşumunun ilk adımı böbrekler içinde tutulan doymuş idrardan çekirdek (nidus olarak adlandırılır) oluşumuyla başlar (Kumar vd., 2012; Khan ve Kok, 2004). Doymuş bir sıvı içinde serbest atomlar, iyonlar veya moleküller gruplardan kümeler oluşumuyla başlayan süreçte bu kümelerin toplam serbest enerjisi sıvınınkinden daha az olduğunda çökme başlar. Örneğin kalsiyum ve oksalat gibi yüklü çözünebilir moleküller kalsiyum oksalat kristallerini oluşturmak için bir araya gelir ve çözünemezler (Basavaraj vd., 2007). Çekirdekleşme serbest parçacık veya sabit parçacık mekanizması yoluyla böbrekte oluşabilir. Aşırı doymuş çözeltilerde eğer promoterler inhibitörlerini aşarsa çekirdeklenme başlar.

Bir çekirdek oluşturulduktan sonra (ve/veya sabitlendiğinde), ilk çekirdeğin oluşumu için gerekenden daha düşük kimyasal basınçta kristalleşme meydana gelebilir. İdrardaki mevcut epitel hücreleri, idrar kalıpları, eritrositler ve diğer kristaller, heterojen çekirdeklenme olarak adlandırılan çekirdek oluşumu sürecinde çekirdekleyici merkezler olarak görev yapabilir. Organik matris, mukopolisakkarit olarak hareket ederek heterojen çekirdekleşme ve kristal birikmesini artırır (Ahmed vd., 2016). Öte yandan nanobakterilerin taş oluşumu için bir kristalleşme merkezi olarak hizmet eden apatit yapıları oluşturduğu da iddia edilmektedir (Kajander ve Çiftçioglu, 1998). Bu süreç taş oluşumunu güçlendirir. Oksalatı parçalayan bakterilerin (örneğin *Oxalobacter formigenes*'in) CaOx taşı oluşumundaki rolü halen araştırılmaktadır (Xu vd., 2013). Bu nedenle çekirdek oluşumu müdahalesini hedefleyen tedavi böbrek taşı kontrolünün en iyi yollarından biridir.

3.6.2. Kristal Büyümesi

İdrarda bulunan kristaller bir araya gelerek kristal büyümesi olarak adlandırılan küçük sert kitleyi oluşturur. Taş büyümesi önceden oluşturulmuş kristallerin bir araya gelmesi veya matrisle kaplanmış yüzeydeki kristalin ikincil çekirdekleşmesi yoluyla gerçekleşir. Bir çekirdek bir kez elde edildiğinde yeni kristal bileşenlerini yüzeyine ekleyerek çekirdeğin genel serbest enerjisi azaltılır. Kümenin toplam serbest enerjisi yüzey enerjisi tarafından artırılır. Taş büyüme süreci yavaş olup böbrek tüplerini tıkamak için daha uzun

süre gerektirir. Organik matrinden başta Tamm–Horsfall proteinini ve osteopontin CaOx taş oluşumunu teşvik eden maddelerdir (Knoll, 2010). İn vitro çalışmalar insan idrarında indüklenen kristallerin kalsiyum içeren kristaller ve organik matris (lipitler ve proteinler) arasında yakın bir ilişki olduğunu göstermiştir. Hücre zarlarının lipitleri temel olarak kristal çekirdekleşmesine katıldığına inanılır.

3.6.3. Kristal Birikimi

Çözeltideki bir kristalin bir araya gelerek daha büyük bir taş oluşturması işlemine birikim denir. Tüm CaOx ürolityazisi modelleri kristal birikimin muhtemelen böbrek içinde kristalin tutulmasında rol oynadığını kabul eder (Aggarwal vd., 2013). Kristal birikimi taş oluşumunun en kritik adımlarından biri olarak kabul edilir.

3.6.4. Kristal-Hücre Etkileşimi

Büyümüş kristallerin böbrek tübül epitelyal hücrelerinin hücre zarına bağlanması, kristal tutulması veya kristal-hücre etkileşimi olarak adlandırılır (Aggarwal vd., 2013; Schepers vd., 2002). Hiperoksalüriye sahip bireylerde renal tübüler epitelyal hücreler yüksek oksalat konsantrasyonlarına veya keskin kalsiyum oksalat monohidrat (COM) kristallerine maruz kaldıklarında yaralanır (Courbebaisse vd., 2016; Khan, 2006; Tsujihata, 2008). Kristal-hücre etkileşimi kristallerin hücrelerin bazolateral tarafından membrana hareket etmesine neden olur. Ardından kristaller hücrelere alınabilir ve böbreklerin bazal zarına tutunabilirler. COM kristallerinin renal epitelyal hücre yüzeyi ile etkileşimi nefrolityaziste kritik başlatıcı bir olay olabilir. Kristal ve yaralanmış renal tübül epitelyum hücreleri arasındaki retansiyon kuvvetinin artması CaOx kristalleşmesini teşvik eder. Epitel hücrelerine bağlanmış kristallerin çoğunluğunun hücreler içinde makrofajlar ve/veya lizozomlar tarafından sindirildiği ve ardından idrarla atıldığı düşünülmektedir.

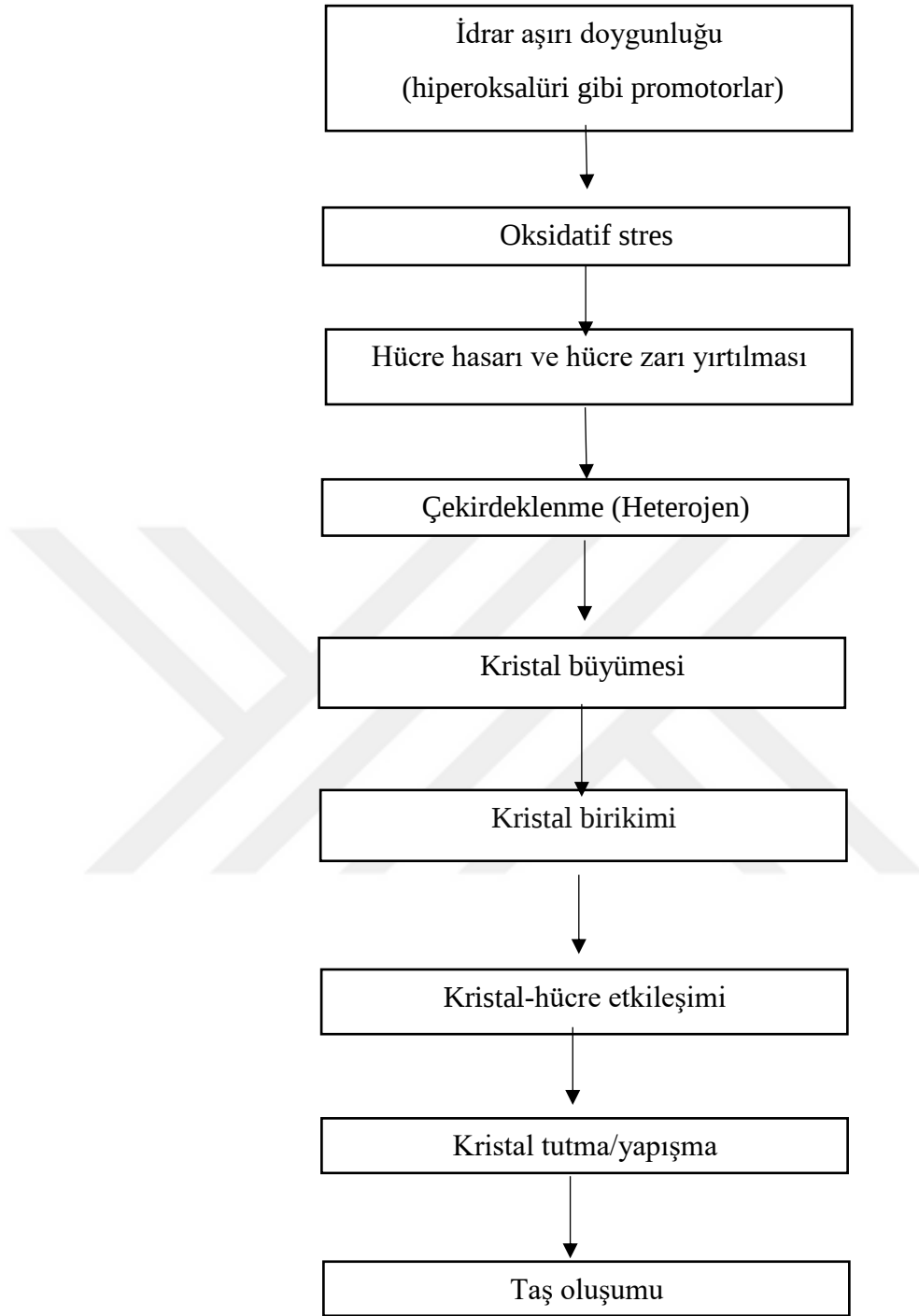
Böbrek tübül hücresi yaralanmasının ardından hücresel çözünmenin bir sonucu olarak kalsiyum kristallerini çekirdeğini oluşturan sayısız membran vezikülü üretilir ki bu in vitro ve in vivo çalışmalar tarafından desteklenir (Aggarwal vd., 2013). Yaralanan hücreler renal prothrombin fragment-1 veya diğer anyonik proteinler gibi maddeleri

serbest bırakır ve COM kristal aglomerasyonunu tetikler (Moryama vd., 2005). Reaktif oksijen türlerinin renal hücre yaralanmasında rol oynayan faktörlerden biri olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle renal oksidatif stresin azaltılması etkili bir tedavi seçeneği olabilir.

Yaralanan hücreler idrar ortamına karşı anyonik olan hücre membranını ters çevirme yeteneğine sahiptir ve kristal yapışmanın yerini olarak hareket eder. COM kristallerinin ters aniyonik membrana daha fazla bağlanma eğiliminde olduğu düşünülür (Khan vd., 2002). Kalsiyum oksalat dihidrat (COD) kristallerinden daha fazla bağlanma eğilimindedir (Barros vd., 2003). Öte yandan COM kristali depozisyonu Madin–Darby köpek böbrek epitelyal hücrelerinde (MDCK hücreleri) gözlemlenirken domuz böbreğinden türetilmiş proksimal tübüler epitelyal hücrelerde (LLC-PK1 hücreleri) çalışma modellerinde daha az gözlenir (Rabinovich vd., 2006). Bu tercihli fark COM kristali bağlanmasına yardımcı olan hyaluronan gibi bir bağlama molekülünün Madin–Darby köpek böbrek epitelyal hücrelerinde bulunmasından kaynaklanabilir (Verkoelen vd., 2000). Kristal-hücre etkileşiminin ayrıntılı mekanizmaları henüz keşfedilmemiş olsa da ürolityazisi tedavi etmenin en iyi yollarından biri kristal-hücre tutulumlarını kontrol etmektir.

3.7. Böbrek Taşı Oluşumunun Genetik Temeli

Nadir taş hastalığına neden olan çevresel faktörler temel genetik faktörlerle etkileşime girer (Sayer, 2008). Kristalleşmenin teşvik edicilerinin ve inhibitörlerinin üretimi renal epitelyal hücrelerin uygun çalışmasına bağlıdır. Hücresel işlev bozukluğu kalsiyum, oksalat ve sitrat gibi iyonları etkileyerek idrar atılımının doygunluğunu etkiler. Taş oluşumuna yol açan bazı genetik kusurlar Şekil 2’de gösterilmiştir.



Şekil 3.2. Böbrek taşı oluşumunun çeşitli olaylarının şematik gösterimi

3.8. Randall Plakları

Randall plakları idrar taşı gelişiminin öncüsü gibi görünmekle birlikte bu sürecin tüm taş türlerini içerip içermediği belirsizdir. Dahası Randall plaklarının patogenezinin kendisi

tam olarak bilinmemektedir. Çoğu kalsiyum oksalat taşlarının Randall plaklarının böbrek papillalarına bağlı olduğu görülmüştür (Evan, 2010). Bu plaklar Henle'nin ince döngüsünün interstisyel baz membranında bulunur (Evan vd., 2003; Evan vd., 2006). Plaklarda kalsiyum fosfat (apatit) ve purin kristal bileşenleri tanımlanmış olsa da apatit baskındır. Başlangıçta kalsiyum fosfat kristalleri ve organik matriks, Henle'nin ince döngüsünün baz membranlarına ve daha da interstisyel alana, yani "Randall plakları" olarak bilinen oluşumlar arasında uzanır. Kanıtlar birincil interstisyel apatit kristalinin oluşumunun ikincil olarak CaOx taş oluşumuna yol açtığını öne sürmektedir (Knoll, 2010). Aşırı doymuş idrar içinde kristaller ürothelyumda yapışır ve ardışık taş büyümesini artırabilir.

Plak böbrek hücre hasarı nedeniyle aşırı doymuş idrara maruz kalır. Böbrek epitelyal hücre hasarı (bozunma) ürünleri heterojen nükleasyonu teşvik eder ve böbrek hücrelerinde kristal yapışmasını teşvik eder. Randall plaklarının kalsifikasyonu oksidatif stres tarafından tetiklenir. Hücreler distal ve toplayıcı tübüllerde kristal bağlama yerleri olarak işlev gösterebilecek molekülleri ifade edebilir. Bu moleküller arasında fosfatidilserin, CD44, osteopontin ve hyaluronan gibi fosfolipitler yer alır (Chhiber vd., 2014; Yuen vd., 2010). Henle'nin ince döngüsü veya toplayıcı kanalların renal epitelyal hücreleri plak oluşumuna yol açan baz tarafında membran vezikülleri üretir (Khan, 2014). Dolayısıyla apatit kristal depozitleri doku matriks moleküllerine daha fazla bağlanma nedeniyle CaOx taş oluşumu için bir temel olarak hareket etmiş olabilir. Bununla birlikte plak oluşumundaki itici güçler ve dahil olan matriks molekülleri belirsizdir.

Böbrek taşları ya renal papillalara bağlıdır ya da serbestçe bulunur. Sabit parçacık yolu açısından interstisyumda kalsiyum fosfat (CaP) birikiminin başlangıcı CaOx oluşumu için bir çekirdek oluşturur. Henle'nin ince döngüsünün baz membranında, iç meduller toplayıcı kanallarında ve Bellini kanallarında oluşan CaP taş oluşumunun bir bağlama alanı olarak hizmet eder. İdiyopatik taş oluşturanlar interstisyel plakların sabit bölgelerine bağlı CaOx geliştirirler. Distal tübüler asidoz taşları Bellini kanallarının genişlemiş kanallarından çıkan tıkaçlara bağlanırken sistin taşları (serbestçe bulunur) plaklara bağlanmaz (Evan, 2010). Renal tüplerde oluşan CaP ürik asit veya sistin kristalleri terminal toplayıcı kanallardan tüylenen yerlere bağlanır. Mineralizasyon böbrek papilları

yüzeyine ulaştığında plaklar patlar ve CaP kristallerini pelvik idrara maruz bırakır. Sonra idrar büyük moleküllerin üzerine çöker ve CaP üzerine CaOx çökmesini teşvik eder.

3.9. Böbrek Taşı İnhibitörleri ve Teşvik Edicileri

İnhibitörler taş oluşumunun önlenmesi için gereken süreçler olan doygunluğun başlatılmasını, nükleasyonu, kristal büyümesini, birikim hızını veya diğer süreçleri azaltan maddelerdir (Basavaraj vd., 2007). Normalde idrar kristal oluşumunu engelleyen kimyasalları içerir. İdrarın inhibitörleri sitrat gibi küçük organik anyonlar, pirofosfatlar gibi küçük anorganik anyonlar, magnezyum gibi çoklu değerli metal katyonları veya osteopontin, glikozaminoglikanlar, glikoproteinler, idrar prothrombin fragment-1 ve Tamm–Horsfall proteinleri gibi büyük molekülleri içerir (Khan ve Kok, 2004; Ratkalkar ve Kleinman, 2011). Bu inhibitörler herkes için eşit derecede işe yaramadığından bazı insanlar taş oluştururlar. Ancak oluşan kristaller genellikle küçük olduğunda idrar yolu boyunca yolculuk eder ve idrarla vücuttan atılır. İnhibitörler ya kristalle etkileşim kurarak ya da idrar ortamını etkileyerek doğrudan veya dolaylı olarak işlev gösterebilir. İnhibitör bileşenler kristalin yüzeyine adsorbe olduğunda nükleasyonu, kristal büyümesini, birikimi veya kristal-hücre yapışmasını inhibe ederler.

Buna karşılık teşvik ediciler çeşitli mekanizmalarla taş oluşumunu kolaylaştıran maddelerdir. Bazı teşvik ediciler arasında hücre membranı lipitleri (fosfolipitler, kolesterol ve glikolipitler) paratiroid hormon uyarımı aracılığıyla kalsitriol hormon artışı oksalat, kalsiyum, sodyum, sistin ve düşük idrar hacmi bulunur (Basavaraj vd.,2007). Tekrarlayan taş oluşturanların idrar oksalat atılımının daha yüksek olduğu sitrat atılımının daha düşük olduğu bulunmuştur (Çakıroğlu vd., 2016). Çalışmalar oksalatın proksimal tübülde klorür, sodyum ve su reabsorpsiyonunu artırabileceğini ve renal epitelyal hücrelerde çoklu sinyal yolunu aktive edebileceğini göstermektedir. Genel olarak idrar taşı inhibitörleri ve teşvik edicileri arasındaki dengesizlik taş oluşumunun nedeni olarak öne sürülmüştür (Basavaraj vd., 2007).

3.10. Böbrek Taşlarının Türleri

Böbrek taşlarının kimyasal bileşimi çeşitli kimyasalların idrar bileşimindeki anormalliklere bağlıdır. Taşlar boyut, şekil ve kimyasal bileşikler (mineroloji) açısından farklılık gösterirler. Mineral kompozisyonundaki farklılıklar ve patogeneze dayalı olarak böbrek taşları genellikle aşağıdaki beş türe ayrılırlar.

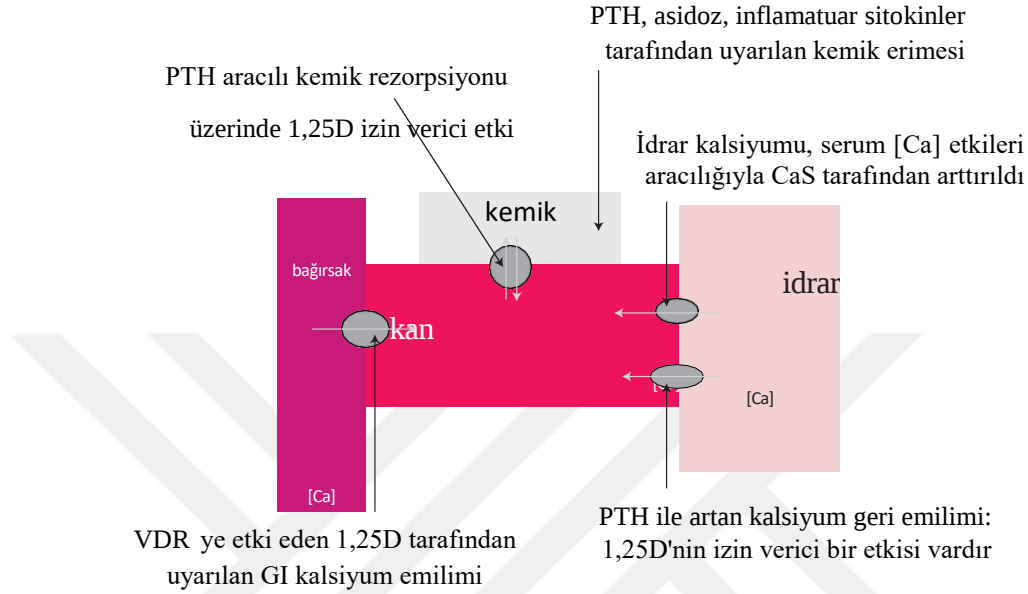
3.10.1. Kalsiyum taşları: kalsiyum oksalat ve kalsiyum fosfat

Kalsiyum taşları tüm üriner taşların yaklaşık %80'ini oluşturan baskın böbrek taş tipidir (Coe vd., 2005). Kalsiyum taşlarının oranı saf kalsiyum oksalat (CaOx ; %50), kalsiyum fosfat (CaP apatit olarak adlandırılır; %5) ve ikisinin karışımı (%45) olabilir (Chaudhary vd., 2010). Kalsiyum taşlarının başlıca bileşeni brushit (kalsiyum hidrojen fosfat) veya hidroksiapatittir. Kalsiyum oksalat böbrek taşlarının çoğunda bulunur ve CaOx monohidrat (COM): whewellite ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), CaOx dihidrat (COD), weddellite ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) formunda bulunur veya her ikisinin bir kombinasyonu olarak da bulunabilir ki bu %60'tan fazlasını oluşturur (Bensatal ve Ouahrani, 2008). COM taş tipleri içerisinde termodinamik açıdan en kararlı formdur. Klinik olarak COD'dan daha sık olarak gözlemlenir.

Çeşitli faktörler CaOx taşı oluşumuna katkıda bulunur ki bu faktörler arasında hiperkalsiüri (rezorptif, renal sızıntı, absorptif ve metabolik hastalıklar), hiperürikosüri, hiperoksalüri, hipositratüri, hipomagnezüri ve hiperkistinüri bulunur (Dal vd., 2005). Genellikle idrarın pH'ı 5,0 ila 6,5 arasında ise CaOx taşları, pH'ı 7,5'ten büyük olduğunda ise kalsiyum fosfat taşları meydana gelir. Kalsiyum taşlarının tekrar olasılığı diğer böbrek taşı türlerine göre daha yüksektir.

Kalsiyum homeostazisinin mekanizmalarının anlaşılması hiperkalsiürinin nasıl gelişebileceğinin anlaşılmasına yardımcı olur (Şekil 3.3). 'İdiyopatik' hiperkalsiürinin altında yatan genetik temel, ailesinde taş öyküsü olan ve olmayan kişilerin yüksek idrar kalsiyumu karşılaştırıldığında gözlemlenen farklılıkla izah edilebilir. İdrar kalsiyum atılımının artmasına neden olan faktörler arasında, artmış gastrointestinal emilim, artmış kemik rezorpsiyonu veya artmış tübüler reabsorpsiyon bulunmaktadır. Bu üç süreç de

PTH ve 1,25D'nin ana hormonlarının etkilediği karmaşık bir geri bildirim döngüsüdür. 1,25D vitamin D reseptörü aracılığıyla etki gösterir. Normalde filtrasyonun %97'si kalsiyum tarafından geri emilir bu nedenle idrar kalsiyum atılımı geri emilimdeki değişikliklere bağlı olarak kontrol edilir.



Şekil 3.3. İdrar kalsiyum atılımının belirleyicileri

3.10.2. Strüvit veya magnezyum amonyum fosfat taşları

Strüvit taşları %10-15 civarında meydana gelir ve enfeksiyon taşları ve üçlü fosfat taşları olarak da adlandırılmıştır. Strüvit taşları üreaz üreten kronik idrar yolu enfeksiyonlarına sahip hastalarda meydana gelir. En yaygın olanı *Proteus mirabilis*'tir ve daha az yaygın patojenler arasında *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacter* bulunur (Giannossi ve Summa, 2012; Barbas vd., 2002; Coe vd., 2005). Üreaz üreyi amonyak ve CO₂'ye bölmek için gereklidir ki bu da idrarı daha alkali hale getirir ve pH'ı yükseltir (genellikle >7). Alkali pH'da fosfat asidik pH'dan daha az çözünür bu nedenle fosfat çözünmeyen amonyum ürünlerine çöker ve büyük boynuz taşı oluşumuna yol açar (Griffith,1978). Kadınların bu türden taşları geliştirme olasılığı erkeklere göre daha yüksektir. *Escherichia coli* üreyi bölememe yeteneğine sahip değildir ve strüvit taşlarıyla ilişkilendirilemez.

3.10.3. Ürik asit taşları veya ürat taşları

Tüm taş türlerinin yaklaşık olarak %3-10'unu oluşturur (Giannossi ve Summa, 2012; Coe vd., 2005). Özellikle et ve balık gibi hayvansal protein içeren diyetler, yüksek purin içeren diyetler, hiperürisüri, düşük idrar hacmi ve düşük idrar pH'ı ($\text{pH} < 5.05$) bu türden taşlara yol açar. Gut hastalığına sahip kişilerin bir veya her iki böbreğinde taş oluşturabilir. Ürik asit nefrolityazisinin en yaygın nedeni idiopatikdir ve ürik asit taşları kadınlardan çok erkeklerde daha yaygındır.

3.10.4. Sistin taşları

Bu taşlar tüm taş türlerinin %2'sinden azını oluşturmakla birlikte bir amino asidin ve sistinin taşınımıyla ilgili genetik bir bozukluk sonucu oluşurlar. İdrar atılımlarında sistinurinin fazla oluşmasına neden olur (Giannossi Summa, 2012; Coe vd., 2005). Bu kromozom 2'deki rBAT genindeki bir kusur nedeniyle oluşan otozomal resesif bir bozukluktur. Bu bozulma sistinin renal tübülerdeki emilimini engeller veya idrara sızan sistinin birikmesine neden olur. İdrarda çözünme gerçekleşmez ve sistin taşı oluşumuna yol açar. Sistinuri için homozigot olan kişiler günde 600 milimolün üzerinde çözünmeyen sistin atarlar. Üriner sistinin gelişimi bu sistin taş hastalığının tek klinik belirtisidir.

3.10.5. İlaç kaynaklı taşlar

Tüm taş türlerinin yaklaşık %1'ini oluştururlar (Giannossi ve Summa, 2012). Guaifenesin, triamteren, atazanavir ve sülfanilamid gibi ilaçlar bu taşların oluşumuna neden olurlar. Örneğin HIV enfeksiyonunu tedavi etmek için kullanılan proteaz inhibitörü indinavir sülfatı alan kişiler böbrek taşları geliştirme riski altındadır (Barbas vd., 2002). Bu tür litojenik ilaçlar veya metabolitleri zaten mevcut olan renal taşlar üzerine bir nidus veya birikim oluşturabilirler. Diğer yandan bu ilaçlar kalsiyum oksalat veya purin metabolizmalarını etkileyerek metabolik etkiler yoluyla taş oluşumuna neden olabilirler.

3.11. Böbrek Taşlarının Analizi için Kullanılan Teknikler

Böbrek taşı oluşumu hakkında her şeyi öğrenmek için taş bileşimindeki varyasyonların tam anlaşılması önemlidir. Tüm taş türleri kristalin bileşimlerinin elemental dağılımın ve özellikle de üratların ve çeşitli kalsiyum fosfatların purin türevlerinin farklı hidrat formlarının belirlenmesi için analiz edilmelidir (Bazin vd., 2006; Daudon ve Bazin, 2013).

Böbrek taşlarının analizi için şu anda kullanılan teknikler şunlardır: (1) kimyasal analiz, (2) termogravimetri, (3) polarizasyon mikroskopisi, (4) taramalı elektron mikroskopu (SEM), (5) toz x-ışını difraksiyonu (XRD) ve (6) farklı spektroskopik tekniklerdir.

3.11.1. Islak kimyasal analiz

Islak kimyasal analiz tekniği taş analizi için en yaygın kullanılan yaklaşımlardan biridir. Bununla birlikte bu yöntem yalnızca bireysel iyonların ve radikallerin varlığını tespit edebilir ancak karışımları ayırt edemez (Kasidas vd., 2004). Taşın içindeki kimyasal bileşenleri daha etkili bir şekilde analiz etmek ve kan ile idrarın kimyasal analizi için kullanılan geleneksel niceliksel yöntemlerle uyumlu bir ıslak kimyasal yaklaşım kullanılabilir.

3.11.2. Termogravimetri

1970'lerden bu yana termogravimetrik analiz (TG veya TGA) böbrek taşlarının analizi için geniş ölçüde uygulanmaktadır (Lee vd., 2012). Bu teknik malzemenin ağırlık kaybının sürekli olarak kaydedilmesine dayanır. Bu işlem sırasında oksijen atmosferinde 1000 °C'ye kadar olan sıcaklık artışı gerçekleştirirlerken, incelenen malzemenin sıcaklık ve ağırlık kaybı incelenir. Her madde kendi özgül dönüşüm özelliklerine sahip olduğundan, dönüşümün başlama ve bitiş sıcaklığı, ağırlık değişikliği miktarı, entalpi, madde doğası ve bu değişikliğin büyüklüğü, mevcut numunedeki elementlerin oranını gösterir (Kasidas vd., 2004).

Rose ve diğerkleri bu yöntemi böbrek taşlarının analizini hızlı yapması nedeniyle önermişlerdir (Rose ve Woodfine, 1976). D'Ascenzo ve diğerkleri çalışmalarında diferansiyel termal analiz (DTA) sonuçlarını TGA ile karşılaştırmışlardır (D'Ascenzo vd., 1983). Bu tekniğin böbrek taşı analizlerinde malzemeyi belirli bir sıcaklıkta tanımlama ve kaydetme hızının yanı sıra büyük bir doğruluğa da sahip olduğunu belirtmişlerdir.

3.11.3. Polarizasyon mikroskopisi

Polarizasyon mikroskopisinin temel çalışma prensibi böbrek taş yapısındaki kristallerin polarize ışııkla etkileşimidir. Bu nedenle ışığın rengi, kırılma miktarı, yansıma veya çift yansıma taşın içerdği mineralleri belirleyen parametrelerdir (Schubert, 2006). Taş kırılır ve ardından uygun kırılma indisine sahip bir sıvı damlası kristal üzerine damlatılarak polarizasyon mikroskobu altında incelenir (Douglas ve Tonks, 1979).

3.11.4. Taramalı elektron mikroskopu

Taramalı elektron mikroskopu özellikle son yıllarda idrar taşlarının morfolojisini ve dokusunu incelemek için kullanılan en hassas tekniklerden biridir. Böbrek taşları çok küçük bile olsa yapısını ve bileşenlerin morfolojisini bozmadan hassas analizler gerçekleştirmek mümkündür (Durdağı vd., 2023). Çok yüksek çözünürlüklü görüntüler üretmesi sonucunda kristalin bileşimi, formu, boyutu, dağılımı, iç yapısı, bileşenlerin konumu, kristalin dönüşümleri ve kristaller ile organik bileşenler arasındaki yakın ilişki üzerine çok çeşitli bilgiler vermektedir (Charafi vd., 2010).

SEM bir örnek yüzeyinin çok yüksek çözünürlüklü görüntülerini üretirken son zamanlarda birincil hiperoksalüri için temel teşhis aracı olarak önerilmiştir (Daudon vd., 2008).

3.11.5. Spektroskopinin farklı teknikleri

Spektroskopi madde ile elektromanyetik radyasyon arasındaki etkileşimin incelenmesidir. Burada böbrek taşlarının analizinde kullanılan bazı spektroskopik teknikler ve pratik uygulamaları anlatılacaktır.

3.11.6. Kızılötesi spektroskopi

İlk olarak Beischer tarafından 1955 yılında taş analizi için uygulanana bu metot o günden beri niceliksel taş analizinde en popüler ve en güvenilir yöntem olarak bilinmektedir (Singh, 2008) İncelenecek böbrek taşı numuneleri önce kızılötesi ışınlarla maruz bırakılarak atomik ve moleküler titreşimler oluşturulur. Daha sonra numunelerin yayınladıkları spektrumlar kaydedilir ve taşın elemental bileşimini belirlemek için spektrumlar analiz edilir (Nguyen Quy ve Daudon, 1997; Kasidas vd., 2004). Kızılötesi spektroskopide geliştirilen en yeni tekniklerden biri Zayıflatılmış Toplam Yansıma (Attenuated Total Reflection, ATR) olup, daha hassas ve doğru sonuçlara da ulaşmak mümkün olmuştur (Schubert, 2006; Hannan, 2023). ATR için en önemli avantajlardan biri KBr kullanarak numune hazırlama adımlarını ortadan kaldırması ve böbrek taşlarının doğrudan analizine imkân vermesidir. Hatta diğer spektrometrelinin analizinde zorlandığı kalsiyum oksalatın kimliğini belirlemek ATR-IR spektroskopisi ile son derece kolaydır (Bazin vd., 2012). Sandra Tamosaityte bir dizi böbrek taşını inceleyerek bu tekniğin organik ve inorganik bileşenlerin belirlenmesindeki duyarlılığını vurgulamışlardır (Tamošaitytė vd., 2013).

3.11.7. Enerji ayırmalı x-ışını analizi (EDXRF)

Enerji ayırmalı x-ışını flüoresans (EDXRF) spektrometreleri çeşitli malzemelerin elemental bileşimlerini belirlemek yani niteliksel ve niceliksel analizler gerçekleştirmek için tasarlanmış güçlü analitik araçlardır. Yayılan x ışınlarının enerjileri ve yoğunlukları ölçülerek numunede hangi elementlerin hangi konsantrasyonlarda mevcut olduğu belirlenebilir. XRF analizinin en önemli özelliklerinden biri tahribatsız analize olanak sağlamasıdır. ICP gibi geleneksel kimyasal analiz yöntemleri sıklıkla numunelerin imha

edilmesini/çözünmesini gerektirir ki bu da onları daha sonraki testler veya analizler için kullanılamaz hale getirir. Ancak XRF spektrometreleri malzemeleri özelliklerini değiştirmeden veya onlara herhangi bir zarar vermeden incelemenize olanak sağlar. SEM örnekleri haritalandırmak başka bir deyişle böbrek taşlarının yüzeyindeki veya yakınındaki elementlerin türlerini ve miktarlarını analiz etmek için enerji ayırmalı x-ışını analizi (EDX) ile birlikte uygulanır. Elektron ışınının numune yüzeyi ile etkileşimi ve numunenin derinliğine nüfuz etmesi numune yüzeyi üzerinde ve yakınında bulunan elementlerin karakteristiği olan x-ışınlarını üretir.

Marickar ve arkadaşları bu teknikle taşları inceleyerek elementlerin konsantrasyon yüzdeleri incelemişler ve böylece tüm taşları oluşturan kristallerin morfolojik özelliklerini öğrenmişlerdir (Fazil Marickar vd., 2009). Başka bir çalışmada taşlar EDXRF ile incelenerek eser elementlerin yüzdesi belirlenmiş bu elementlerin rolünün ve hastaların diyetleriyle ilişkisinin anlaşılması amaçlanmıştır (Srivastava vd., 2014). Uvarov ve ark. böbrek taşlarında tanımlanan fazların şeklini ve uzaysal dağılımını incelemek için bu tekniği kullanmışlar, sonuçları ümit verici ve uygulanan diğer tekniklerle uyumlu bulmuşlardır (Uvarov vd., 2011).

3.11.8. Lazerle oluşturulan kırılma spektroskopisi

Kısa lazer darbesiyle yüksek sıcaklıkta plazmanın oluşturulması LIBS teknolojisinin ana fiziksel temelidir. Kısa atımlı bir lazer ışını gönderildiğinde ve numune yüzeyine odaklandığında numune kütlesinin küçük bir hacmi Lazer Ablasyonu olarak bilinen bir işlemle, yani hem termal hem de termal olmayan mekanizmalar aracılığıyla uzaklaştırılır. Lazer darbesi sona erdiğinde plazma soğumaya başlayacak ve uyarılmış elektronik hallerdeki atomların ve iyonların elektronları temel durumlarına döndükçe plazmanın farklı spektral tepe noktalarına sahip ışık yaymasına neden olacaktır. Analiz edilen her numunedeki farklı zirveler kimyasal bileşimi belirlemek için kullanılacaktır. LIBS piklerinin yoğunluklarına bakılarak numunedeki eser ve ana elementlerin konsantrasyonu ölçülebilir. LIBS veri analizi ile çok çeşitli numune matrisleri için hem niceliksel hem de malzeme ayrımları gerçekleştirilebilir.

LIBS böbrek taşı örneklerinin çoklu element analizini gerçekleştirmek için de kullanılabilen hassas ve hızlı bir optik tekniktir. Bazı araştırmacılar böbrek taşlarının incelenmesinde özellikle LIBS yöntemini kullanmışlardır (Singh ve Rai, 2009; Singh vd., 2011). Yine Singh ve Rai bu optik tekniğin böbrek taşlarının analizinde hassas ve hızlı bir yöntem olduğunu vurgulamıştır (Singh ve Rai, 2011). Başka bir çalışmada ise böbrek taşlarındaki eser elementlerin uzaysal dağılımını elde etmek için LIBS kullanılmış ve örnek içindeki elementler hakkında bilgi edinmek için çok uygun bir teknik olduğu belirtilmiştir (Singh vd., 2009).

3.11.9. Lazer ablasyon indüktif eşleşmeli plazma-kütle spektrometrisi

Kütle Spektrometresi (LA-ICP-MS) katı malzemelerde yüksek hassasiyetle elemental ve kararlı izotop analizleri için doğrudan mikro ölçekli örneklemede kullanan analitik bir tekniktir. Malzemeyi numunenin yüzeyinden çıkarmak için nanosaniye darbelerine sahip güçlü bir lazer ışını kullanır. Lazerin numune yüzeyi ile etkileşimi ile numune malzemesinde ısınma, buharlaşma ve iyonizasyon meydana gelir ki buna "lazer ablasyon" adı verilir. Numune daha sonra indüktif olarak eşleşmiş bir plazmada iyonize edilir, atom türleri iyonlar halinde taşınır, ayrılır ve zaman içindeki kütle-yük oranlarına göre analiz edilir. Bu sayede bir numunedeki ana ve eser element bileşimleri milyarda bir (ppb) mertebesine kadar analiz edilebilmektedir. Pek çok katı malzeme numune hazırlama için herhangi bir özel işlem gerektirmeden çok yönlü olarak analiz edilebilir. Çok küçük numune miktarları bile (pikogramlardan femtogramlara kadar) çok hassas bir şekilde ölçülebilir (milyarda bir).

3.11.10. Atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS)

Genellikle AAS olarak kısaltılan atomik soğurma spektroskopisi, ışığın belirli dalga boylarından (genellikle 190 ila 900 nm) emilen enerjiye dayalı olarak sıvı bir numunedeki elementlerin konsantrasyonunu analiz eder. Numunedeki serbest iyonlar tarafından emilen ışık miktarı ölçülerek bu atomların konsantrasyonu belirlenir. Bir numuneyi belirli bir dalga boyunda ışığa maruz bırakarak ve ardından bu ışığın ne kadarının numune tarafından emildiğini ölçerek yalnızca numunedeki bir elementin varlığını değil, aynı zamanda o elementin konsantrasyonunu da belirlenebilir. Hem katı hem de sıvı

numuneleri incelemek ve yaklaşık 70 farklı elementi tespit etmek için kullanılabilir. Ancak katı numunelerle çalışmak istenirse ek işlemler gerekebilir.

Diğer spektrometrik teknikler kadar yaygın olmasa da böbrek taşlarının yapısı da AAS spektrometrisi kullanılarak belirlenmeye çalışılmaktadır. Joost ve Tessadri (1987) AAS ile 24 farklı taşta 31 farklı eser element belirlemişlerdir. Önemli eser element içeriğine sahip taş hastalarının kanında, idrarında ve saçında eser element konsantrasyonları da araştırılmıştır. Taha vd., (2023) alevli atomik absorpsiyon spektrometresi (FAAS) kullanarak Cu ve Zn'nin CaOx taşlarının biyokimyasal ve moleküler özellikleri üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Durak vd., (1998) atomik absorpsiyon spektrofotometrik yöntemini kullanarak 29 böbrek taşında magnezyum ve eser elementleri belirlemişlerdir.

3.11.11. Proton kaynaklı x-ışını emisyonu (PIXE)

Proton kaynaklı x-ışını emisyonu (PIXE) olarak da bilinen parçacık kaynaklı x-ışını emisyonu yüksek enerjili iyon bombardımanı ile bir numuneden yayılan x-ışınlarını ölçerek bir numunenin elemental bileşimini belirlemek için kullanılan analitik bir tekniktir. Uyarılma sırasında farklı ışınlarla yüksek enerjili iyon bombardımanı nedeniyle hedef elementin karakteristik enerjilerine sahip x-ışınları üretilir. PIXE spektroskopisinde He^{2+} veya H^+ yüklü parçacık ışınları kullanılır. Uyarılmayla bir elektron uzaklaştırılır ve dış kabuk elektronları iç kabuk boşluğunu dolduracak şekilde durum değiştirdiğinde belirli enerjilerde x-ışınları yayılır. Yayılan x-ışını enerjileri uyarılma sürecinden bağımsızdır ancak mevcut elementlerin karakteristiğidir.

Pineda ve ark. taşlardaki eser element konsantrasyonlarını anlamak ve açıklamak için micro-PIXE teknolojisini kullanmışlardır (Pineda-Vargas vd., 2009). Başka bir çalışmada böbrek taşlarındaki kalsiyum oksalatın dağılımını haritalandırmak için kullanılmışlardır. Bu çalışma böbrek taşı büyümesi ve mikro-PIXE teknolojisi ile uyarılma mekanizmalarını ortaya çıkarmak için önemli bilgiler sağlamıştır (Pineda vd., 1995).

3.11.12. Senkrotron radyasyonu (SR) kullanan x-ışını bilgisayarlı mikrotomografi (μ CT)

Senkrotron hızlandırıcılarda çapı 10 metre ile 100 metre arasında değişen (bazıları bundan daha büyük) bir döngüde elektron salınımı esastır. Elektronun yolu manyetik alan tarafından kontrol edilirken x ışınları, kızılötesi ve morötesi ışınlar da dâhil olmak üzere geniş bir elektromanyetik spektrum aralığı üretilir. Bu türün ürettiği radyasyon oldukça konsantre ve monokromatik olduğundan, geleneksel x-ışını cihazlarının ürettiği radyasyondan daha yoğundur. Ayrıca bu tekniğin sentez ve yüksek parlaklık özellikleri, böbrek taşları içindeki eser elementlerin dağılım haritalarının incelenmesini çok önemli bir araç haline getirmektedir (Manzoor vd., 2019).

Manzoor vd., (2019) plağın içindeki taş oluşum mekanizmasını ve apatitin büyüme sürecindeki rolünü incelemek için μ CT'yi kullanmışlardır (Manzoor vd., 2019). Kaiser ve ark. nefrolitiaziste lokalize olan minerallerin mikro yapılarını araştırmak için μ CT'yi kullanmışlardır (Kaiser vd., 2011). Manzoor ve ark. eser metal birikiminin dokusu ve modelinin yanı sıra böbrek taşlarının gözenekli yapısının ve mekansal varyansının 3 boyutlu analizini SR- μ CT ile incelemişlerdir (Manzoor vd., 2019).

3.11.13. X-ışını absorbsiyon yakın kenar spektroskopisi (XANES)

X-ışını absorbsiyon yakın kenar spektroskopisi (XANES) bir reaksiyon veya elektrokimyasal işlem sırasında bir atomun yerel elektronik yapısını belirlemek için kullanılan analitik bir yöntemdir. Bu teknik genellikle elektrokimyasal olarak aktif elementlerin oksidasyon seviyelerindeki değişiklikleri izlemek için uygulanır. Bir molekülün boş durumlarının kısmi yoğunluğunu belirleyen, elemente özgü ve yerel bağlanmaya duyarlı spektroskopik bir analizdir.

Pattanasiriwisawa vd. (2008) böbrek taşlarının bilinmeyen bileşiklerinde kükürt, fosfor ve kalsiyumun K kenarları etrafındaki XANES spektrumlarını kaydetmişlerdir. XANES sonuçlarının x-ışını toz kırınımı (XRPD) tekniği ile elde edilen aynı taşların kırınım tablosu verileriyle iyi bir uyum içinde olduğunu bulmuşlardır.

3.11.14. Toz x-ışını difraksiyonu (XRD)

X-ışını toz kırınımı (XRD) öncelikle kristalli bir malzemenin faz tanımlaması için kullanılan; kimyasal bileşim, kristal yapı, kristal oryantasyonu, kristalit boyutu, kafes gerilimi, tercih edilen oryantasyon ve katman kalınlığı gibi bilgileri doğru bir şekilde veren spektrometrik bir tekniktir. Toz kırınımı genellikle tek kristal kırınımına göre daha kolay ve kullanışlıdır çünkü tek tek kristallerin yapımını gerektirmez. Analiz edilecek numune önce ince bir şekilde öğütülür, homojenleştirilir ve ortalama kütle bileşimi belirlenir.

Durdağı vd., (2023) Erzincan ve çevresindeki hastalardan alınan idrar taşlarının faz kompozisyonunu x-ışını kırınım spektrometresi ile analiz etmiştir. Orlando vd., (2008) Brezilya'da insan böbrek taşlarının faz bileşimini incelemek için x-ışını toz kırınımını kullanmıştır. Sofińska-Chmiel vd., (2023) çok bileşenli böbrek taşlarının morfolojisini ve kimyasal bileşimini araştırmak için kızılötesi spektroskopi (FTIR), x-ışını kırınımı (XRD) ve EDX dedektörlü elektron mikroskobu gibi tanımlama yöntemlerini kullanmıştır.

3.12. Böbrek Taşı Oluşunu Önlemek İçin Yapılabilecekler

3.12.1. Artan sıvı alımı ve diürezis

Dehidrasyon böbrek taşı hastalığının genel bir riski olarak kabul edilir. Hidrasyon durumunu sürdürmek ve idrar konsantrasyonunu azaltmak için artan sıvı alımı böbrek taşı hastalığının önlenmesi için uzun süredir kabul görmüş bir öneridir. Diürezis, yüksek sıvı alımı ve diüretik ajanların kullanılmasıyla elde edilebilen idrar hacminin artırılması sürecidir. Diüretik işlemi ile artan idrar akış hızı ve/veya diüretik işlemi ile azalan su geri emilimi idrar hacminin artmasına ve idrar osmolaritesinin azalmasına katkıda bulunur. Bir klinik deneme yüksek idrar hacmi ile tekrarlayan kalsiyum nefrolityazis riski arasındaki ilişkiyi göstermiştir (Borghesi vd., 1996). Bu nedenle yüksek hacimli su alımı genellikle böbrek taşı hastalığını önleme için başlangıç stratejisi olarak kabul edilir. Son yıllarda hastalığı önlemek için su alımının arttırılması sürekli olarak vurgulanmıştır.

Günlük tüketilen bazı içecekler diürezis yapabilir. Kahve gibi çayın ve alkolün de diüretik etkisi olduğu bildirilmiştir. Bir meta-analiz kahve, çay ve alkol gibi birçok içeceğin

tüketiminin böbrek taşı hastalığı riski ile ilişkili olabileceğini bildirmiştir (Ferraro vd., 2013). İngiltere’de son zamanlarda yapılan bir nüfus tabanlı prospektif bir kohort çalışması yüksek sıvı alımı, kahve ve çay tüketimini ile ilk taş için hastaneye yatışın azaltabileceğini göstermiştir. Yapılan çalışmalar; yüksek sıvı alımının sadece kristal atılma hızını artırmakla kalmayıp (daha yüksek idrar akış hızı aracılığıyla), hastalığı önlemede, kristalleşme, kristal-hücre yapışması ve kristal birikme gibi diğer taş oluşum adımlarını etkileyerek de böbrek taşlarını engellediğini göstermektedir.

3.12.2. Yaşam tarzı ve alışkanlık değişiklikleri

Obezite ve kilolu olma durumu da böbrek taşı hastalığını için risk faktörleri olarak kabul edilir. Bu nedenle hastalık riskini azaltmak için normal vücut kitle indeksini (VKİ) korumak için kilo kaybı, Avrupa Üroloji Derneği (European Association of Urology-EAU) ve Amerikan Üroloji Derneği (American Urological Association UAA) tarafından tavsiye edilmektedir. İn vivo bir çalışma ayrıca gıda sınırlaması ve egzersizle kilo kaybının idrar sitrat atılımını artırabileceğini ve hastalık riskini azaltabileceğini ortaya koymuştur (Sasaki vd., 2015). Fiziksel aktivite ve egzersiz birçok hastalığı ve bozukluğu azaltabilir. Yaklaşık 90000 kadın üzerinde yapılan büyük bir kohort çalışması fiziksel aktivitenin (yoğunluğundan bağımsız olarak) postmenopozal kadınlarda böbrek taşını önleyebileceğini göstermiştir (Sorensen vd., 2014). Benzer şekilde sonraki bir meta-analiz de fiziksel aktivite ile hastalık riski arasında bir ilişki bulunmadığını göstermiştir (Aune vd., 2018). Bu veriler fiziksel aktivitenin ve egzersizin hastalık üzerindeki gerçek yararının tartışmalı olduğunu ve çeşitli değişkenler veya karıştırıcı faktörler üzerinde daha fazla aydınlatmaya ihtiyaç duyduğunu göstermektedir. Ayrıca dikkate alınması gereken diğer bir faktör yoğun terleme ve su kaybına neden olabilen yoğun fiziksel aktivite ve egzersiz sırasındaki ve sonrasındaki hidrasyon durumudur.

Çalışma ortamının ve iklim değişikliğinin böbrek taşı riski üzerindeki etkileri de araştırılmıştır. Yüksek sıcaklık bölgesinde çelik endüstrisinde çalışan işçiler hipositratri ve düşük idrar hacmi gibi böbrek taşı oluşumu için artmış risk faktörleri deneyimlemektedir (Atan vd., 2005). Bu nedenle hastalık prevalansları genel nüfusun üzerindedir (Lotan vd., 2017). Sık sık yüksek sıcak bir ortamda çalışan inşaat işçileri genel nüfusa kıyasla daha yüksek hastalık prevalansı yaşarlar (Ferraz ve Aquino, 2014).

Bu veriler yüksek sıcaklıkla ilişkilendirilen yüksek böbrek taşı prevalansının yoğun terleme ve dehidrasyon tarafından tetiklendiğini göstermektedir.

Sigara içmenin böbrek taşı hastalığı ile ilişkisi tartışmalıdır. Bu çalışmalardan birinde sigara içmenin hastalık riskini artırdığını göstermiştir (Tamadon vd., 2013). Ancak sonraki çalışmalar sigara içmenin risk ve nüks ile anlamlı bir ilişkisi olmadığını göstermiştir (Detsyk vd., 2017; Marić vd., 2019). İran’da yapılan son bir çalışma böbrek taşı hastalarının sağlıklı bireylere göre daha yüksek sigara içme alışkanlığı gösterdiğini ancak taş oluşumunda diğer faktörlerde düşünüldüğünde anlamlı bir ilişki bulunamadığını göstermiştir (Khalili, P., ve ark 2021). Ancak Tayvan’da yapılan son çalışma pasif sigara içimine maruz kalmanın bile yüksek hastalık insidansı ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Chen vd., 2021). Bu referanslara dayanarak hastalığı önlemek için sigara içmeme ve dumanından kaçınılması önerilebilir ancak daha güçlü kanıtlara hala ihtiyaç vardır.

3.12.3. Beslenme yönetimi

Akdeniz Tipi (Mediterrane) beslenme tarzı gibi bazı beslenme tarzları ile (bitki kaynaklı yiyeceklerin yüksek tüketimi, doymuş yağ asitlerine göre monounsaturated yağ asitlerinin yüksek tüketimi ve et ürünlerinin düşük tüketimi şeklinde tanımlanır) hastalık riski daha düşük ilişkilidir (Carlos vd., 2018; Prieto vd., 2019; Rodriguez vd., 2020). Hiperkalsiüri, hiperoksalüri, hipositratri, hipomagnesüri ve hiperürikosüri gibi birkaç metabolik anormallik böbrek taşı oluşumu için bilinen risk faktörleridir. Bu nedenle beslenme değişiklikleri bu metabolik anormallikleri düzeltebilir, hastalık riskini azaltabilir ve yeni ve tekrarlayan böbrek taşlarını önleyebilir.

3.12.3.1. Kalsiyum alımı ve D vitamini takviyesi

Hiperkalsiüri kalsiyum taşı için önemli risk faktörlerinden biri olduğundan günlük kalsiyum alımı endişe kaynağıdır. Amerikan Üroloji Derneği, Avrupa Üroloji Derneği, Kanada Üroloji Derneği (Canadian Urological Association-CUA) ve Asya Üroloji Derneği (Urological Association of Asia-UAA), kalsiyum taşı olan hastaların günde 1000-1200 mg/d beslenme yoluyla kalsiyum tüketmelerini tavsiye etmektedir (Pearle vd.,

2014; Skolarikos vd., 2022; Bhojani vd., 2022; Taguchi vd., 2019). Kalsiyum takviyesinin hastalık riskini artırabileceği de bildirilmiştir (Curhan vd., 1997). Aksine yüksek beslenme yoluyla alınan kalsiyumun semptomatik böbrek taşı azaltabileceğide gösterilmiştir (besin kalsiyumunun bağırsakta besin oksalatı ile bağlanarak oksalatın bağırsak emilimini azaltması nedeniyle) (Curhan vd., 1997; Šálek, 2020). Yüksek böbrek asit yükü metabolik kemik hastalığı ve hiperparatiroidizm gibi birkaç faktör hiperkalsiüriye neden olur. Ek olarak D vitamini takviyesi bağırsaktan kalsiyum emilimini artırabilir. Besin kalsiyumunu ve D vitaminini birlikte almak böbrek taşı oluşumunu teşvik eden sinerjik bir etki yapabilir (Letavernier vd., 2016). Başka bir in vivo çalışma kalsiyum ve D vitamini birlikte verildiğinde Randall plakasının oluşumunu artırdığını onaylamıştır (Bouderlique vd., 2019). Kalsiyum taşı oluşturanların retrospektif bir çalışması D vitamini takviyesinin idrar kalsiyum atılımını artırdığını ortaya koymuştur (Taheri vd., 2019). Bununla birlikte uzun süreli D vitamini takviyesinin hiperkalsiüri riskini artırdığını ancak taş riskini artırmadığını bildiren bir meta-analiz rapor etmiştir (Malihi vd., 2016). Yaklaşık 200000 katılımcının yer aldığı başka bir prospektif analiz D vitamini alımı ile taş riski arasındaki ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı bir eşik seviyesine ulaşmadığını bildirmiştir (Ferraro vd., 2017). Benzer şekilde rastgele kontrollü bir çalışma aylık D vitamini takviyesinin taş riskini ve serum kalsiyum konsantrasyonunu artırmadığını göstermiştir (Malihi vd., 2019). Çelişkili sonuçların olduğu bu gibi durumlarda kalsiyum taşının alt tipi de dikkate alınmalıdır. Bu nedenle beslenme yoluyla kalsiyum alımı ve D vitamini takviyesi hakkında karar vermeden önce bireylerin risk faktörleri ve daha önceki kalsiyum ve D vitamini konsantrasyonları da dikkate alınmalıdır.

3.7.3.2. Sodyum alımı

Yüksek sodyum alımı artmış idrar kalsiyum atılımı ve böbrekte CaOx kristal birikimi ile ilişkilidir (Nakazawa vd., 2019; Park vd., 2014). Pediatrik hastalarda yüksek sodyum alımı aynı zamanda kalsiyum ürolityazis ile ilişkilendirilmiştir (Wang vd., 2022). Bu gözlemi destekleyici olarak genetik hiperkalsiürik taş oluşturan sıçanlarda yapılan bir in vivo çalışma düşük sodyum klorür alımının idrar kalsiyum atılımını azalttığını ve böbrek taşı oluşumunu azalttığını göstermiştir (Krieger vd., 2019). Benzer şekilde retrospektif

bir analiz düşük sodyum diyetinin idrar kalsiyumda önemli bir azalmaya neden olduğunu bulmuştur (Seeger vd., 2017). Bu veriler yüksek sodyum alımının böbrek taşı oluşum riskini arttırdığını oysa sodyum sınırlamasının hastalığı önlemek için umut verici olduğunu göstermektedir. AUA kılavuzlarına göre kalsiyum taşı olan hastaların günlük sodyum alımını ≤ 100 mEq/d (2300 mg/d) sınırlaması önerilmektedir (Pearle vd., 2014). Ayrıca hem UAA (Taguchi, 2019) hem de EAU (Skolarikos, 2022) kalsiyum taşı olan hastalarda sodyum alımını günde 2 g/d (3-5 g/d NaCl) ile sınırlamayı önermektedir.

3.12.3.3. Oksalat alımı

Hyperoxaluria hastalık için diğer bir ana risk faktörüdür. Dış kaynaklı oksalat özellikle oksalat açısından zengin gıdalardan gelirken, endojen oksalat karaciğer ve eritrositler tarafından üretilir (Ermer vd., 2023; Huang vd., 2020). Hyperoxaluria birincil ve ikincil hyperoxaluria olarak sınıflandırılabilir. Glisilat metabolizmasında yer alan karaciğer enzimlerindeki kusurlar oksalatın aşırı üretimine yol açar ve birincil hyperoksalurinin yaygın nedenidir. Bu nedenle birincil hyperoksaluri ile karaciğer hasarı ilişkilidir (Recker vd., 2022). İkincil hyperoksaluri birçok faktörden kaynaklanmakta olup bunlar: yüksek oksalat ve oksalat öncüsü açısından zengin gıdaların tüketimi ve malabsorpsiyon sendromu nedeniyle oksalatın bağırsak emiliminin artması olarak sıralanabilir. İdrar oksalat konsantrasyonu özellikle besin oksalatı ve öncüsünün tüketimi ile etkilenir. Bir in vitro çalışma yüksek oksalatın renal epitel hücrelerinin COM kristallerini bağlama yeteneğini artırdığını göstermiştir (Peerapen ve Thongboonkerd, 2021). Bu tür COM kristali bağlama yeteneğinin artırılması COM bağlayıcı proteinlerden biri olan α -enolazın artmış yüzey ekspresyonu aracılığıyla gerçekleşir. Bu nedenle ıspanak, soya ürünleri, fındık, badem, patates (özellikle kabuk kısmı), pancar, deniz fasulyesi, ahududu ve hurma gibi oksalat açısından zengin gıdaların kısıtlanması, tüm kılavuzlarda CaOx böbrek taşı önleme önerilerinden bazılarıdır. Mide bypassı veya bariyatrik cerrahi sonrası hastalarda yaygın olarak görülen gastrointestinal malabsorpsiyona bağlı olarak oksalatın bağırsak (kolon) emilimi arttığından, enterik hyperoksaluri (Canales ve Gonzalez, 2014; Espino-Grosso ve Canales, 2017) oluşabilir. Emilmez negatif yüklü yağ asitleri daha sonra küçük bağırsakta enterik kalsiyum ile bağlanır ki bu da enterik CaOx çöktürmesini azaltır ve serbest oksalatın bağırsağa girmesine ve orada emilmesine yol açar. Bu nedenle mide

bypassı/bariyatrik cerrahi taş oluşumu ile ilişkilidir (Gadiyar vd., 2022). AUA CaOx taşları ve hyperoksalüriye sahip hastaların oksalat açısından zengin gıdaları kısıtlamalarını fakat yeterli kalsiyum alımını da (gut oksalatın bağırsak kolona girmeden önce yeterli kalsiyumun bağlanmasına izin vermek için) önermektedir.

3.12.3.4. Vitamin C alımı

İnsan vücudundaki C vitamini veya askorbik asit çoğunlukla besin kaynaklıdır. Özellikle de taze meyve ve sebzelerden gelmektedir. C vitamini oksalata metabolize edilebilir ve idrarla atılabilir. Birçok çalışma aşırı C vitamini alımının (çoğunlukla C vitamini takviyesi olarak) böbrek taşı oluşum riskini artırdığını bildirmiştir. Bir in vivo çalışma C vitamini takviyesinin idrar oksalat atılımını artırabileceğini göstermiştir (Jaturakan vd., 2017). C vitamini ayrıca hidroksi-l-prolin ile indüklenen hyperoksalurik sıçanlarda COM ve COD kristallerinin renal birikimini azaltmaktadır. Öte yandan bir in vitro çalışma C vitamini ile oksalat kaynaklı oksidatif stres ve renal hasara karşı önleyici etkisi olan antioksidan özellik göstermiştir (Thamilselvan vd., 2014). Dahası başka bir in vitro çalışma C vitamini kullanarak *Pseudomonas aeruginosa* varlığında struvit kristallenmesini inhibe ettiğini önermektedir.

3.12.3.5. Hayvansal ve bitkisel proteinler

Diyetle protein alımının ve hastalık riskinin ilişkisi proteinlerin türüne bağlıdır (Ferraro vd., 2016). Balık, sığır eti ve tavuk gibi hayvansal proteinlerin alımı özellikle kalsiyum ve ürik asit taşları dâhil olmak üzere hastalığın yüksek riski ile ilişkilendirilmiştir (Ferraro vd., 2016 ; Shu vd., 2019). Bu nedenle EAU ve UUA kılavuzları kalsiyum taşı olan hastaların ve hiperürisüriye sahip hastaların (hayvansal proteinlerin idrar pH'ı ve sitrat konsantrasyonu düşük ve idrar oksalat ve ürik asit yüksek konsantrasyonlarla ilişkilendirildiği için) hayvansal proteinleri sınırlamaları gerektiğini belirtmektedir (Skolarikos vd., 2022; Taguchi vd., 2019). CUA da miktar belirtmeksizin hayvansal proteinlerin orta düzeyde tüketilmesini önermektedir (Bhojani vd., 2022). AUA ise kalsiyum ve ürik asit taşı olan hastalarda sığır eti dışı hayvansal protein tüketiminin sınırlanmasını önermektedir (Pearle vd., 2014). Hayvansal kaynaklı gıdalardan elde

edilen diyetle neden olunan renal asit yükü, kalsiyum ve sitrat metabolizması ile ilişkilidir ve idrar kalsiyum atılımının artmasına ve idrar sitrat atılımının azalmasına neden olmaktadır. Öte yandan bitkisel protein alımı koruyucu etkiler göstermektedir (Shu vd., 2019). Bu nedenle bitkisel proteinlerin hayvansal proteinlere nazaran daha çok tüketilmesi taş oluşumunun önlenmesi için önerilmektedir.

3.12.3.6. Citrat alımı

Böbrek taşı hastalığı için başka bir risk faktörü hypocitraturia'dır. Hypocitraturia birçok faktör tarafından tetiklenebilir ve diğer hastalıkların tedavisi için karbonik anhidraz inhibitörleri (örneğin asetazolamid) gibi bazı ilaçların kullanımıyla tetiklenebilir (Zuckerman ve Assimios, 2009). Böbrek taşı hastaları özellikle hypocitraturia hastaları meyve ve sebzelerin tüketimini artırarak liflerin ve idrar sitrat konsantrasyonunun artırılması konusunda AUA, EAU, CUA ve UAA tarafından teşvik edilmektedir (Pearle vd., 2014). Narenciye meyveleri diyet sitratının başlıca kaynağıdır ve greyfurt-limon suları gibi diğer narenciye meyve sularına göre sırasıyla en yüksek sitrat konsantrasyonlarındadırlar. Yapılan bir çalışma limonata tüketiminin idrar hacmini ve sitrat konsantrasyonunu artırarak, CaOx ve CaP'nin aşırı doyumunu azaltıp tekrarlayan kalsiyum taşı oluşumunun azaltılması için maliyet etkili bir seçenek olabileceği bildirilmiştir (Cheng vd., 2019). Taze limon suyu ile yapılan diyet takviyesi aynı zamanda CaOx taşı tekrarını önlemektedir (Ruggenenti vd., 2022). Ayrıca lime tozu COM kristal büyümesini inhibe eder ve COM kristali tarafından indüklenen tübüler hücre hasarında reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimini önlemektedir (Chariyavilaskul vd., 2015). Sağlıklı gönüllülerde yapılan klinik deneme lime tozunun idrar sitrat atılımını artırdığını, idrar pH'ını yükselttiğini ve idrar CaOx aşırı doyumunu azalttığını göstermiştir (Ungjaroenwathana vd., 2019). İlginçtir ki in vitro hücre kültüründe in vivo fare modelinde ve sağlıklı bireylerde lime tozunun toksik etkisi gözlenmemiştir. Bu ise lime tozunun günlük tüketim için güvenli olduğunu göstermektedir. Uromodulinin böbrek taşı oluşumu üzerinde çift düzenleyici etkisi vardır (Sassanarakkit vd., 2020). Belirli koşullar altında bu proteinin kristal agregasyonunu teşvik edebilir (Grover vd., 1990). Bu nedenle de lime tozu kalsiyum taşı oluşumunun güçlü inhibitörleri olan sitrat ve uromodulinin idrar konsantrasyonlarını artırarak taş oluşumunu önler.

4. MATERYAL YÖNTEM

4.1. X-Işını Kırınımı (XRD) Nedir?

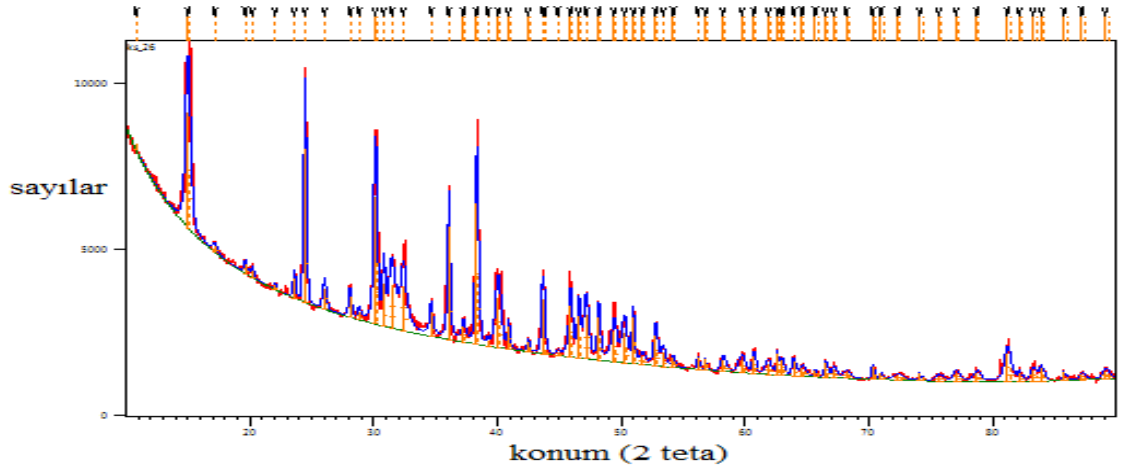
X-ışını kırınımı (XRD) toz numune katı numune hatta sıvı numune gibi malzemelerde faz bileşimi, yapı, doku ve daha pek çok özelliğin analizinde kullanılan çok yönlü ve tahribatsız bir analitik yöntemdir. Fazların tanımlanması bilinmeyen bir numuneden elde edilen x-ışını kırınım modelinin bir referans veri tabanının modelleri ile karşılaştırılması yoluyla gerçekleştirilir. Bu süreç olay yeri incelemelerinde parmak izinin tespit edilmesine çok benzemektedir. Alternatif olarak bilimsel literatürde yayınlanmış veya kendi ölçümlerinden türetilen saf fazların ve/veya desenlerin deneysel kırınım desenlerinden bir referans veri tabanı oluşturmak mümkündür.

Malvern Empyrean'ın XRD üçüncü nesil gibi modern bilgisayar kontrollü difraktometre sistemleri faz analiz yazılımı ile birlikte oldukça karmaşık karışımlarda bile bireysel bileşenler tarafından üretilen benzersiz difraktogramları ölçmek ve yorumlamak için otomatik rutinler kullanmaktadır.

X-ışını kırınımının ana konuları şunlardır:

- Saf madde ve karışımların kalitatif ve kantitatif faz analizi,
- Sıcaklığın ve/veya nem veya uygulanan basınç gibi diğer ortam dışı değişkenlerin etkisinin analizi,
- Çok kristalli mühendislik malzemelerindeki kristalit boyutu tercih edilen yönelim etkileri ve artık gerilim gibi özellikler de dahil olmak üzere malzemenin mikro yapısının analizi.

Bu tekniklerin birçoğu kaplamalar gibi çok kristalli katmanlı malzemeler için de kullanılabilir. Diğer x-ışını kırınım teknikleri arasında heteroepitaksiyel katmanların yüksek çözünürlüklü analizi, ince filmler üzerinde x-ışını reflektometrisi ve küçük açılı x-ışını saçılması yer alır. Tipik bir toz deseni Şekil 4.1.'de verilmiştir



Şekil 4.1. Bir kristal fazın ve bir amorf fazın varlığını gösteren tipik toz modeli

X-ışını toz kırınımı çok çeşitli araştırma ve proses kontrol ortamlarında kullanılmaktadır. Örneğin:

- Üniversitelerde ve araştırma merkezlerinde (yeni) materyallerin karakterizasyonu,
- İnşaat malzemeleri, kimyasallar, farmasötikler gibi çeşitli endüstrilerde örneğin faz bileşimi ve içeriği gibi proses kontrolü,
- İlaç endüstrisinde polimorfizmin belirlenmesi, API (aktif farmasötik madde) konsantrasyonunun belirlenmesi, API stabilite çalışmaları,
- Jeolojik numunelerdeki minerallerin faz tespiti,
- Aşınmaya dayanıklı seramikler ve biyomalzemeler için üretim parametrelerinin optimizasyonu,
- Bir fazın kristalliliğinin belirlenmesi,
- Karışımlardaki amorf faz içeriklerinin belirlenmesi.

4.2. X Işınlarnın Madde ile Etkileşimi

λ dalga boyuna ve I_0 yoğunluğuna sahip x-ışınları bir malzemeye nüfuz ederse zayıflar (μ), emilir (τ), saçılır (σ) ve ‘çift oluşturma’ (π) adı verilen olaylara uğrarlar. Bu parametreler ilave etki gösterir. Absorbsiyon maddedeki x-ışınları için birinci dereceden

etkidir dolayısıyla literatürde sıklıkla zayıflama ve soğurma katsayısı arasında ayırım yapılmaz. Yoğunluğa (ρ) göre literatürde KSS (MAC) olarak da adlandırılan kütle soğurma katsayısı (μ/ρ) ile verilir. İletilen yoğunluk I gelen yoğunluk I_0 'a, soğurma katsayısı μ 'ya ve d malzemesinden geçen yol uzunluğuna bağlıdır:

$$I = I_0 e^{-\mu d} \quad (4.1)$$

Malzemenin soğurma katsayısı (μ) şunlara bağlıdır: atom numarası (Z), yoğunluk (ρ), paketleme fraksiyonu (p) (tipik bir değer 0,6 ila 0,8 arasındadır), dalga boyu (λ)

$$\mu \sim \rho p Z^3 \lambda^3 \quad (4.2)$$

Zayıflama keskin süreksizliklerle kesintiye uğrayan dalga boyuyla birlikte düzenli olarak artar. Bu süreksizlikler atomların elektronik kabuklarının neden olduğu soğurma kenarlarına karşılık gelir. Saçılma sürecine ilişkin olarak x-ışınlarının maddeyle iki ana etkileşiminin ayırt edilmesi gerekir: koherent (faz uyumlu) ve inkoherent (faz uyumsuz) saçılma.

- Faz uyumlu veya Rayleigh saçılımı x-ışını kırınımı için en önemli etki olur. Gelen fotonun iç kabuk elektronlarıyla çarpışması üzerine elastik saçılmasıdır. Fotonun dalga boyu değişmez yani fotonun enerjisi sabit kalır.

- Faz uyumsuz saçılım Compton saçılımı ve floresans olarak ikiye ayrılabilir. Her iki durumda da saçılma işlemiyle fotonun dalga boyu artar yani fotonun enerjisi azalır.

- Compton saçılımı: Bir elektron kabuğundan dışarı itilir veya daha yüksek bir enerji durumuna uyarılır. Gelen x-ışını fotonu enerji kaybeder. Bu tür saçılma gelen fotonların düşük enerjisi nedeniyle laboratuvar x-ışını toz kırınımında göz ardı edilebilir.

- Floresans: Gelen foton atomun iç kabuğundaki bir elektronu fırlatır. Boşluk daha sonra atomun dış kabuklarından birindeki bir elektron tarafından doldurulur. Bu elektronun bir kabuktan diğerine hareketi iki kabuğun enerji farkı kadar bir x-ışını fotonu yaratır. Bu fotonun enerjisi atom numarasına bağlıdır ve bu nedenle atomun kendisi için karakteristiktir. Bu etki element konsantrasyonlarının belirlenmesi için x-ışını (XRF floresans) analizinde kullanılır. XRD'de genellikle istenmeyen bir radyasyon olarak kabul edilir çünkü kırınım grafiğinin arka planını yükseltir ve tepe/arka plan oranını azaltır.

4.3. X Işınlarnının Üretilmesi

4.3.1. Giriş

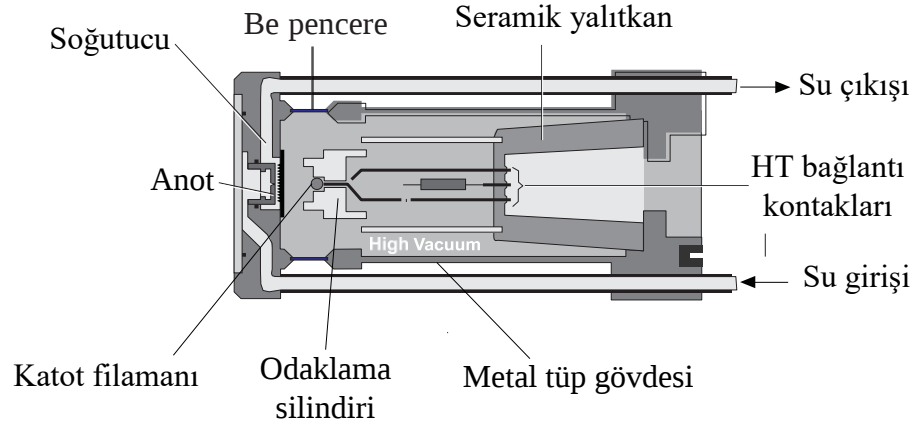
X-ışını kırınımı için yeterli yoğunlukta x-ışınları elde etmenin çeşitli fiziksel yöntemleri vardır. En yaygın yöntemler şunlardır:

- Uygun bir malzemedan (anot) oluşan hedefi odaklanmış elektron ışıınıyla bombardıman etmek (Ulaşılabilen maksimum x-ışını yoğunluğu, anodun soğutma sistemi tarafından sınırlanan maksimum güç kadar). Bu x-ışını kaynaklarına kapalı x-ışını tüpü adı verilir. Modern tasarımlarda stabiliteyi ve kullanım ömrünü artırmak için cam gövdeler yerine seramik izolatörler kullanılır.
- Yüksek enerjili elektronların elektromanyetik alanlar tarafından sapıtılması x-ışınlarının yayılmasına neden olur. Bu prensip sinkrotronlarda kullanılır. Bu cihazlar çok güçlü bir x-ışını yoğunluğu sağlar ancak büyük ve çalıştırılmaları pahalı olduğundan yalnızca büyük araştırma merkezlerinde kullanılır.

4.3.2. Kapalı x-ışını tüpü

Kapalı bir x-ışını tüpünde (Şekil 4.2.) elektronlar sıcak bir filaman olan katot tarafından yayılır. Katot ile anot arasındaki yüksek voltaj farkı (U) elektronları anot malzemesine doğru yüksek bir hızla hızlandırır ve bunun sonucunda filamanın anot üzerinde çizgi görüntüsü oluşur. Elektronların kinetik enerjisi ($E_{kin} = e \cdot U$) esas olarak ısıya (%99) ve x-ışını radyasyonuna (%1) dönüştürülür. Bu nedenle anotun (arka tarafı) etkili bir şekilde soğutulması gerekir.

X-ışınları ince berilyum pencereleri aracılığıyla tüpün anotundan yayılır. Pencereler tüpü kapalı tutar ve x-ışınlarının geçmesine izin verir. Optikler anoda bir geçiş açısı altında ‘bakar’ ve bu da görünür kaynak nokta boyutunun daha küçük olmasına neden olur. Pencereler nokta veya çizgi odağını oluşturacak şekilde odak çizgisine göre paralel veya dik konumlara yerleştirilir.



Şekil 4.2. Seramik x-ışını tüpünün şematik çizimi (X'Pert tipi)

X-ışını tüpünün yoğunluğu zamanla azalır. Bu esas olarak tungsten filamanının (katot) buharlaşmasından kaynaklanır ve bu da anot ve Be pencereleri üzerinde tungstenin birikmesine yol açar. Anot üzerinde tungsten birikmesi kırınım grafiğinde ilave çizgilere yol açar. Elektronlar anoda çarptığında iki tür radyasyon yayılır: beyaz (Radyasyon Bremsstrahlung) ve karakteristik x-ışını radyasyonu.

4.3.3. Sürekli (Beyaz) radyasyon

Hızlandırılmış elektronların anotla etkileşimi enerji kaybına neden olur bu da x-ışınlarının emisyonuna neden olur. Duane-Hunt yasası, enerji dengesinden başlayarak radyasyon dalga boyunun en düşük dalga boyu λ_0 'ın bir tahminini verir:

$$E = eU = h\nu = h \frac{c}{\lambda} \quad (4.3)$$

e temel yük, U Tüpün yüksek voltajı, c ışık hızı, h Planck sabiti, ν frekans' tır. (4.3) eşitliğinden:

$$\lambda_0 = \frac{hc}{eU} \Rightarrow \lambda_0(\text{\AA}) = \frac{12.4}{U(KV)} \quad (4.4)$$

Dauvillier yasası radyasyon dalga boyunun maksimumunun dalga boyu λ_{max} ' in tahmin edilmesine izin verir:

$$\lambda_{max} = (1,5 \text{ ile } 1,7 \text{ arasında}) \lambda_0 \quad (4.5)$$

Beyaz radyasyon dalga boyunun toplam yoğunluğu I_{wr} :

$$I_{wr} \sim ZU^2i \quad (4.6)$$

Z atom numarası, U tüp voltajı, i tüpün emisyon akımını göstermektedir. Şunu söyleyebiliriz:

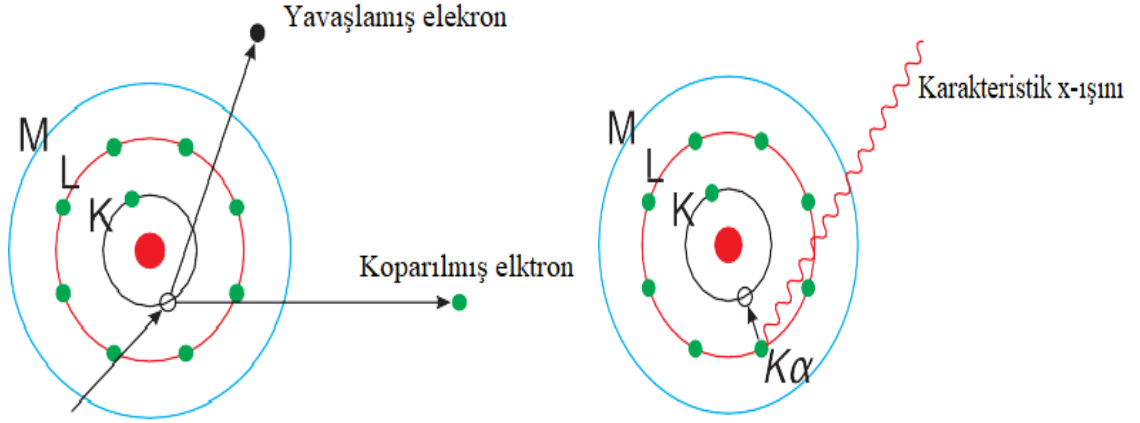
- X-ışını yoğunluğu i emisyon akımına doğrusal olarak bağlıdır,
- hızlanma gerilimi U 'ya ikinci dereceden bağlıdır.
- daha yüksek atom numarasına sahip hedefler daha yüksek bir x-ışını yoğunluğu sağlar ki bunun nedeni daha büyük atom yarıçapıdır (daha etkili bir kesit). Beyaz radyasyon x-ışını kırınım deneylerinin çoğu için istenmeyen bir durumdur ve kırınım deneylerinin çoğu monokromatik bir radyasyon gerektirir.

4.3.4. Karakteristik x-ışınlarının üretimi

Karakteristik radyasyonun üretim prensiplerini anlamak için Bohr 'kabuk' modeline başvuracağız. Bir atom pozitif yüklü proton ve nötronlardan oluşan yüksüz bir çekirdekten oluşur. Çekirdek kabuklar veya yörüngeler halinde gruplandırılmış elektronlarla çevrilidir. En içteki kabuğa K kabuğu denir ve dışarı doğru hareket eder ardından L kabukları, M kabukları vb. gelir. L kabuğunun L_I , L_{II} ve L_{III} adı verilen 3 alt kabuğu vardır. M kabuğunun M_I , M_{II} , M_{III} , M_{IV} ve M_V olmak üzere alt kabuğu vardır. K kabuğu 2 elektron, L kabuğu 8 ve M kabuğu 18 içerebilir.

Belirli bir elektronun enerjisi kabuğa ve proton sayısına (yani kimyasal elemente) bağlıdır. Bir atomu x-ışını fotonları veya yeterli enerjiye sahip elektronlarla ısıtmak bir elektronun atomdan dışarı atılmasına neden olabilir (Şekil 4.3.).

Bir elektronun emisyonu kabukta bir boşluk yaratır (şekilde K kabuğunda bir boşluk). Bu atomu daha yüksek enerjiyle uyarılmış duruma sokar. Atom fazla enerjiyi serbest bırakarak orijinal konfigürasyona geri dönmek ister. Bu bir elektronun dış kabuktan (bu durumda L kabuğundan) K kabuğundaki boşluğa aktarılmasıyla yapılır.



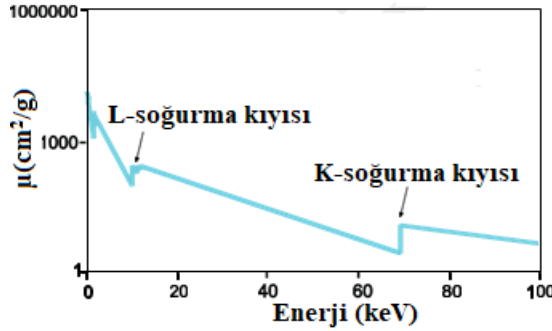
Şekil 4.3. Karakteristik x-ışını radyasyonunun üretimilmesi

Bir elektronun emisyonu kabukta bir boşluk yaratır (şekilde K kabuğunda bir boşluk). Bu atomu daha yüksek enerjiyle uyarılmış duruma sokar. Atom fazla enerjiyi serbest bırakarak orijinal konfigürasyona geri dönmek ister. Bu bir elektronun dış kabuktan (bu durumda L kabuğundan) K kabuğundaki boşluğa aktarılmasıyla yapılır. Bir L-kabuk elektronu bir K-kabuk elektronundan daha yüksek enerjiye sahiptir. Böylece L kabuğu elektronu K kabuğuna aktarıldığında fazla enerji x-ışını fotonu olarak yayılır. Fotonun emisyon enerjisi spektrumda belli bir çizgi olarak görülür. Yayılan x-ışını fotonunun enerjisi başlangıçtaki boşlukla kabuğun enerjileri arasındaki farka ve boşluğu dolduran elektronun enerjisine bağlıdır (şekilde, K ve L kabuğunun enerjileri arasındaki fark). Her atomun kendine özgü enerji seviyeleri vardır dolayısıyla yayılan radyasyon o atomun (bu durumda anot malzemesinin) karakteristiğidir.

Bir atomdan bir elektronun atılması için x-ışınlarının enerjisinin elektronun bağlanma enerjisinden daha yüksek olması gerekir. Bir elektron kopartılırsa gelen x-ışını fotonu emilir ve saçılmaya neden olur. Öte yandan enerji çok yüksekse birçok foton atomun içinden ‘geçecek’ ve atomlarla etkileşim yalnızca ara sıra meydana gelecektir. Şekil 4.4. yüksek enerjilerin emilimini göstermektedir.

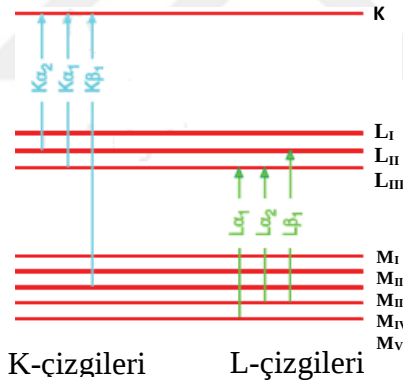
Enerji azalırse emilim artar ve saçılma verimi artar. En yüksek verime fotonun enerjisi dışarı atılacak elektronun bağlanma enerjisinin hemen üzerinde olduğunda ulaşılır. Enerji bağlanma enerjisinden daha düşük hale gelirse bir sıçrama veya kenar görülebilir: Enerji

elektronları o kabuktan çıkaramayacak kadar düşük ancak elektronları daha düşük enerjili kabuklardan çıkaramayacak kadar yüksektir. Şekiller K kabuğuna karşılık gelen K kenarını ve L_I - ve L_{II} - ve L_{III} kabuklarına karşılık gelen üç L kenarını göstermektedir.



Şekil 4.4. Kütle soğurma katsayısı ve foton enerjisi

Kuantum mekaniğine göre tüm geçişlere izin verilmez. Örneğin L_I - kabuğundan K kabuğuna geçiş. Şekil 4.5. geçişlerle birlikte en önemli emisyon hatlarına genel bir bakış sunmaktadır.

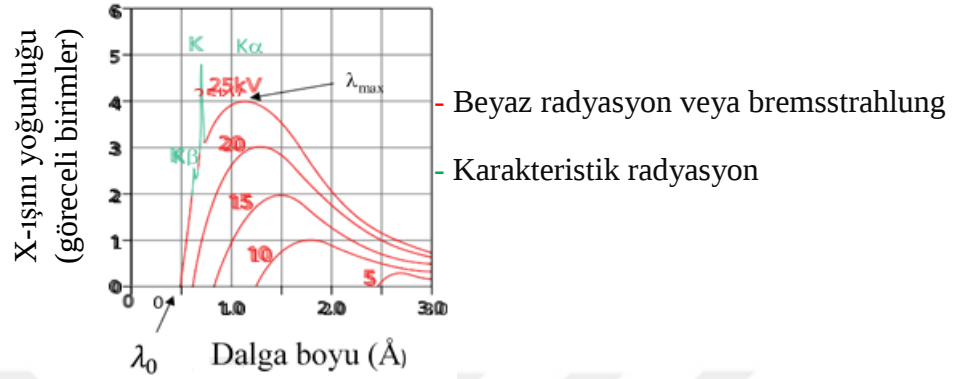


Şekil 4.5. Ana çizgiler ve geçişleri

Her atomun kendi enerji seviyeleri olduğundan yayılan radyasyon o atoma özeldir ve karakteristik x-ışını radyasyonu denir. Bu prosedür x-ışını floresans analizinin (XRF) temelini oluşturur. Fotonun dalga boyu Moseley yasasına göre Z atom numarasına bağlıdır: $\frac{1}{\lambda} \sim Z^2$

Bir x-ışını tüpü anot malzemesinin (en yaygın olarak Cu, Co veya Mo) karakteristik dalga boylarını iletir. Karakteristik radyasyon beyaz radyasyonun üzerine bindirilir. Şekil 4.6. bu durumda bir Mo x-ışını tüpü için çeşitli hızlanma voltajları için x-ışını spektrumunu

göstermektedir. Gerilim çok düşükse karakteristik radyasyon miktarının çok küçük olduğu görülebilir.



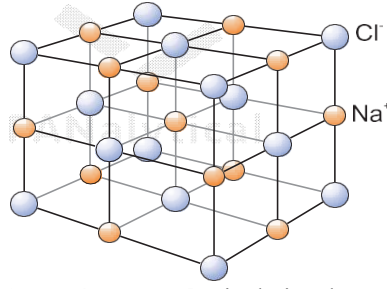
Şekil 4.6. Çeşitli hızlanma voltajları için toplam x-ışını spektrumu (Mo x-ışını tüpü)

Uyarma voltajı çok yüksekse beyaz ışınım miktarı karakteristik ışınım miktarının üzerinde artar. Bu kırınım grafiğinde yüksek bir arka plana yol açar. Her anot malzemesinin karakteristik x-ışınlarının üretimi için kendi optimum voltajı vardır. Karakteristik spektrumun birkaç çizgisi vardır: $K\alpha_1$ ve $K\alpha_2$ radyasyonunun yanı sıra $K\beta$ radyasyonundan oluşan ‘ $K\alpha$ ikilisi’. Monokromatik $K\alpha$ radyasyonunu elde etmek için $K\beta$ çizgisi genellikle uygun bir monokromatör veya filtre ile bastırılır.

4.4. Kristalografik Terminolojiye Kısa Bir Giriş

4.4.1. Kristal yapı

Kristal yapı katı maddedeki atomların benzersiz üç boyutlu düzenidir. Kristal yapı kafes üzerinde üç boyutlu olarak periyodik olarak tekrarlanan birim hücreden oluşur. Birim hücreler arasındaki çeşitli yönlerdeki mesafeye kafes parametreleri denir. Kristalin simetri özellikleri uzay grubunda somutlaşmıştır. Şekil 4.7’de bir örnek verilmiştir.



Şekil 4.7. NaCl'nin kristal yapısı

Birim hücre içindeki atomların konumları seçilen bir kafes noktasından ölçülen atomik konumlar (x_i, y_i, z_i) kümesiyle tanımlanır. Her kristal yapı için kristalin tam simetrisine sahip en küçük birim olan geleneksel bir birim hücre vardır. Ancak geleneksel birim hücre her zaman mümkün olan en küçük seçenek değildir.

Belirli bir kristal yapıya sahip ilkel bir birim hücre döşendiğinde alanı tamamen dolduracak şekilde inşa edilebilecek mümkün olan en küçük birim hücredir. Ancak bu ilkel birim hücre kristalin doğasında bulunan tüm simetrileri göstermez.

4.4.2. Kristalin durumu

Atomlar periyodik ve düzenli olarak üç boyutta düzenlenir. İdeal kristaller tamamen tek bir birim hücre ve onun sonsuz üç boyutlu periyodik tekrarı (öteleme simetrisi) tarafından tanımlanır ve uzun menzilli bir düzen sağlar. Kristal malzeme, toz difraktometrisinde belirgin zirvelere yol açar.

4.4.3. Amorf durum

Kristalin durumunun aksine amorf durum yapı atomları (veya birim hücrelerin) yalnızca kısa menzilli düzene sahiptir. Bu kırınım deseninde net kırınım tepe noktaları yerine çok geniş tümseklere yol açar.

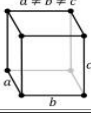
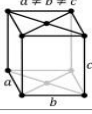
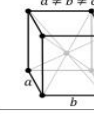
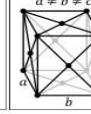
4.4.4. Karşılıklı kafes

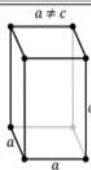
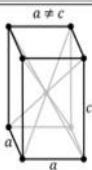
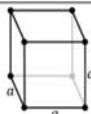
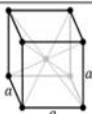
Karşılıklı kafes x-ışını kırınımının tanımını sağlamaya yardımcı olan matematiksel bir yapıdır. Karşılıklı kafesteki her nokta gerçek uzay kafesindeki bir dizi kafes düzlemine

karşılık gelir. Karşılıklı kafes vektörünün yönü gerçek uzay düzlemlerinin normaline karşılık gelir ve karşılıklı kafes vektörünün büyüklüğü gerçek uzay düzlemlerinin düzlemleri arasındaki aralığın tersine eşittir.

4.4.5. Bravais kafesleri

Bravais kafesleri öteleme simetrisi tarafından verilen 14 olası kafestir. Bu basit kafesler tüm kristal yapıların hatta karmaşık olanların bile tanımlanmasına olanak sağlar (Şekil 4.8.).

Kristal sistemi (7 Adet) (En az simetrikten en çok simetriğe)	Bravais kafesi (14 Adet)			
1. Triklinik	$\alpha, \beta, \gamma \neq 90^\circ$ 			
2. Monoklinik	Basit	Basit, taban merkezli		
	$\beta \neq 90^\circ$ $\alpha, \gamma = 90^\circ$ 	$\beta \neq 90^\circ$ $\alpha, \gamma = 90^\circ$ 		
3. Ortorombik	Basit	Taban merkezli	Hacim merkezli	Yüzey merkezli
	$a \neq b \neq c$ $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ 	$a \neq b \neq c$ 	$a \neq b \neq c$ 	$a \neq b \neq c$ 
4. Rombohedral	$a = b = c$ $\alpha = \beta = \gamma \neq 90^\circ$ 			

5. Tetragonal	Basit	Hacim merkezli	
			
6. Hegzagonal			
7. Kübik	Basit kübik (BK)	hacim merkezli (HMK)	yüzey merkezli (YMK)
			

Şekil 4.8. 14 Bravais kafesinin grafiksel gösterimi

4.4.6. Kristal sınıfları

Bir birim hücrenin içeriğinin daha ileri bir sınıflandırması, olası kristal yapıların farklı simetri işlemlerine (dönme, kayma yansıması, ters çevrilme ve bunların kombinasyonları) uyma durumlarına göre sınıflandırılmasıyla yapılabilir. 32 kristal sınıfı vardır (nokta simetri grupları olarak da bilinir).

4.4.7. Uzay grupları

Mümkün olan tüm Bravais kafesleri ve kristal sınıfları dikkate alınırsa 230 benzersiz uzay grubu elde edilir. Her kristalin 230 uzay grubundan biriyle tanımlanabilecek bir yapısı vardır. Düzlemlerarası aralıklar veya kafes düzlemleri kristalde hayali düzlemleri tanımlamak mümkündür. Bu düzlemler Miller indeksleri ile tanımlanır. Uzaklıkları d 'dir.

4.5. Toz Kırınım Grafiği

4.5.1. Giriş

Bir toz kırınım grafiği Bragg açısına (2θ) karşı saçılan yoğunluğu gösterir. Bir dizi tepe noktası (yansıma) içerir. Zirve; konumları, yoğunlukları ve profilleriyle karakterize edilir. Tepe noktaları ve arka plan x-ışını toz kırınım tekniğine ilişkin tüm bilgilerin kaynağıdır. Tablo 4.1. ise genel bir bakışı göstermektedir. Bu üç temel parametrenin kökenleri aşağıdaki paragraflarda daha ayrıntılı olarak tartışılmaktadır.

Tablo 4.1. Toz kırınım grafiğinin bilgi içeriğine ilişkin genel araştırma

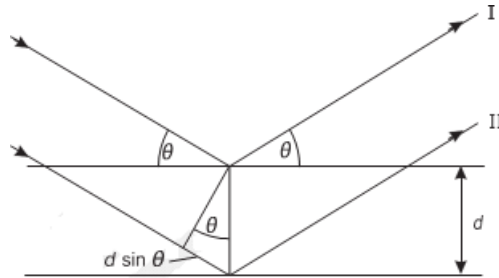
Refleks	Bağlı olduğu	Ana faktörler bağlıdır
Konum	- atomların/moleküllerin periyodik düzenlenmesi - kullanılan dalga boyu	- niteliksel faz analizi - kafes parametreleri - artık stres
Yoğunluk	- kristal yapı - kullanılan dalga boyu - örnek hazırlama	- kantitatif faz analizi - kristal yapı - tercih edilen yönler/doku
Profil	- kafes bozulmaları	- mikro gerilim - kristalit boyutları

4.5.2. Yansımaların konumu: Bragg yasası

Katı maddedeki atomların düzeninin bir sonucu olarak x-ışınlarının atomlarda tutarlı saçılması belirli ve iyi tanımlanmış açılarda yapıcı girişime neden olur. Bu etki görünür ışığın dalga boyuna yakın nm ölçekli aralıklara sahip ızgaralardaki iyi bilinen kırınımına benzer (Şekil 4.9.). Bir kristal birkaç Ångström aralıklı üç boyutlu bir ızgara olarak görülebilir ve gelen x-ışını fotonunun dalga boyu benzer boyutta olduğunda kırınım etkileri gözlemlenebilir. 1913'te W.H. Bragg ve W.L. Bragg bir kristaldeki x-ışınlarının kırınımını ve girişimini kristal kafesin atomik düzlemlerindeki yansımalar olarak tanımladı. Yansımaların konumları komşu düzlemler arası aralıklarda yansıyan iki ışın arasındaki optik yol farkı $2s$ kullanılarak, $s = d \sin \theta$ ile hesaplanır. Görünür ışık optiklerinde olduğu gibi, λ 'nın tamsayı katları için maksimumlar üretilir:

$$2d \sin \theta \lambda = n\lambda \quad (\text{Bragg yasası}) \quad (4.7)$$

d düzlemler arası aralık $dhkl$ (hkl : Miller indeksleri), θ Bragg açısı θ_B , 2θ gelen ışın ile yansıyan ışın arasındaki açı, n Girişim 'mertebesi' $n = 1, 2, 3 \dots$, normalde $n = 1$ (buna n yansıması mertebesinde denir), λ dalga boyu.



Şekil 4.9. Bragg yasasının grafiksel gösterimi

4.5.3. Yansımaların yoğunluğu

Bir yansımanın yoğunluğu temel olarak aşağıdaki parametrelerle belirlenir: kristalin simetrisi, birim hücredeki atomların konumları, atomların elektron sayısı (kırılan dalganın genliği ikinci dereceden bu sayıya bağlıdır) tarafından belirlenen yapı faktörü, malzeme miktarı, malzemedeki emilim.

4.6. X-Işını Saçılma Tekniklerine Genel Bakış

4.6.1. Tek kristal XRD

Tek kristal x-ışını kırınımında çok sayıda farklı yansıma bulmak için tek bir kristal çeşitli eksenler etrafında döndürülür. Kristal içindeki atomik düzenleme (kristal yapı) açısal konumlardan ve bu yansımaların yoğunluğundan belirlenebilir. Olası tüm yansımaları gözlemlemek için dört dairesel bir açıölçer gereklidir.

4.6.2. Toz kırınımı

X-ışını toz kırınımında numune birbirine göre ideal olarak rastgele yönlendirilmiş sonsuz sayıda küçük kristalitten oluşur. Tüm yönelimler mevcut olduğundan yalnızca geliş açısını ve kırınım açısını değiştirmek gerekir. Bir toz kırınım grafiği olay ile kırılan ışın arasındaki açının bir fonksiyonu olarak tespit edilen yoğunluğun sayılmasıyla elde edilir.

4.6.3. Özel röntgen teknikleri

SAXS (küçük açılı x-ışını saçılımı) parçacık sistemlerinin yapısını ortalama boyutlar veya şekiller açısından belirlemeye yönelik analitik bir yöntemdir. Malzemeler katı veya sıvı olabilir ve herhangi bir kombinasyon halinde aynı veya başka bir malzemenin katı, sıvı veya gazlı alanlarını (parçacıklar olarak adlandırılan) içerebilirler. SAXS tekniği atom mesafeleri yerine parçacık mesafelerine baktığından, etkiler birincil ışının yakınındaki çok küçük saçılma açılarında ortaya çıkar. Deneyler x-ışını aynaları ve özel bir yönlendirme yarık sistemi kullanılarak iletim geometrisinde gerçekleştirilir.

4.7. X-Işını Işın Yolundaki Optik Bileşenler

Bir difraktometrenin optik yolu bir olay ve kırınımlı ışın yoluna bölünebilir. Bu iki farklı yol tekniğe ve uygulamaya bağlı olarak farklı optik modüller gerektirir. Gelen ışındaki tipik optik bileşenler ıraksama yarıkları ve aynalar olup; kırılan ışın yolunda ise nokta dedektörleri veya konuma duyarlı dedektörlerle birlikte bazen monokromatörlerle birlikte alıcı yarıklar ve paralel plaka kolimatörleri kullanılır.

4.7.1. Genel gereklilikler

Bir x-ışını toz kırınım modelinin kalitesi büyük ölçüde optik bileşenlerin seçimi ve bunların performansı ile belirlenir. Tipik olarak aşağıdaki parametreler iyi kalitede difraktogramlar için önemlidir: yansımaların yüksek çözünürlüğü, yansımaların yüksek yoğunluğu, düşük arka plan.

Standart bir difraktometre odaklama geometrisi için aşağıdaki bileşenlerle donatılmıştır:

- Gelen ve kırılan ışının ekstenel sapmasını tanımlamak için soller yarıkları,
- aydınlatılmış uzunluğu tanımlamak için birincil ıraksaklık yarığı ve ışın genişliği,
- β -filtre ve/veya monokromatör(ler),-nokta dedektörleriyle birlikte alıcı ve saçılma önleyici yarıklar veya,
- konuma duyarlı dedektörlerle birlikte saçılma önleyici yarıklar,

Odaklama geometrisi dışındaki belirli uygulamalara yönelik diğer optik seçenekler ise şunlar olabilir: çok katmanlı X-ışını aynaları, tek kılcal damarlar, polikapiller lensler, hibrit monokromatörler, paralel plaka kolimatörleri.

4.7.2. Bragg-Brentano geometrisi için yarık optikler

Bir difraktometrede birincil x-ışınlarının (tüpün çizgisinden veya odak noktasından yayılan) sadece numuneyi aydınlatacak şekilde koşullandırılması gerekir. Bir Bragg-Brentano düzeneğinde numune bir ıraksaklık yarığı ile tanımlanan ıraksak bir ışın kullanılarak aydınlatılır. Odaklanma ilkesi açısından farklılık önemlidir böylece kafes düzlemlerinden yansıyan ışın 0D veya 1D dedektörünün önündeki alıcı yarığa odaklanır. Odak ile numune arasındaki mesafe numune ile alıcı yarık/1D dedektörü arasındaki mesafeyle aynıdır.

4.7.3. Optik modüller

Yarık sistemlerine ek olarak gelen ve kırılan ışın için çeşitli uygulamalarda yararlı olabilecek başka optik modüller de mevcuttur.

$K\beta$ filtresi ve monokromatör: İyi bir kırınım grafiği elde etmek için istenmeyen etkilerin azaltılması veya ortadan kaldırılması önemlidir. Bu etkiler: radyasyonu $K\beta$, $K\alpha_2$ radyasyonu, numunenin floresan radyasyonu, hava dağılımı, bremsstrahlung (tüp arka planı). $K\beta$ filtreleri birincil veya ikincil ışın yoluna monte edilebilen ince metal folyolardır. Genellikle numune floresansının etkisini azaltmak için kırınımlı ışın yolunda kullanılırlar. Filtre malzemeye özel soğurma kenarını kullanarak beta emisyon hattını bastırır. Bir Ni filtre Cu radyasyonunun $K\beta$ kısmının $>99\%$ 'unu soğurur ancak aynı zamanda $K\alpha$ radyasyonunu da $\sim 50\%$ oranında azaltır. Çoğunlukla eski tüpler kullanıldığında mevcut olan Tungstenin (W) L çizgileri de soğurulur. $K\beta$ filtreleri olarak kullanılan malzemeler normalde anot malzemesinin atom numarasının altındadır.

X-ışını aynaları veya birincil monokromatörler kullanıldığında $K\beta$ bu optikler tarafından tamamen bastırıldığından β filtresinin kullanılması gerekli değildir. Birincil monokromatörler bir veya daha fazla tek kristalden oluşur. Kafes düzlemindeki gelen ışın Bragg denklemini karşılayacak şekilde ışın yolunda konumlandırılırlar. Bragg denklemi yalnızca belirli bir açıdaki belirli dalga boyları için geçerli olduğundan, kristalden kırılan ışın oldukça monokromatiktir. Bir monokromatörün kullanımı her zaman daha düşük bir birincil ışın yoğunluğuna yol açar çünkü dalga boylarının yalnızca bir kısmı kullanılır ve yoğunluk monokromatör kristalinde emilir. Birkaç bitişik kristalin kombinasyonu gelen ışının spektral saflığını artırır ancak yoğunluğun ilave zayıflamasına yol açar.

İkincil ışın monokromatörleri düz veya kavisli tek kristalden oluşur. Alıcı yarığın arkasındaki kırınımına uğramış ışında yaygın olarak kullanılan tek monokromatör $K\beta$ radyasyonunu ortadan kaldırır ancak $K\alpha$ çiftinin tamamı dedektöre geçer.

4.8. Dedektörler

X-ışını dedektörleri üç farklı tipte sınıflandırılabilir:

Nokta veya 0D dedektörü: Gelen tüm fotonlar sayılır, aktif eleman üzerindeki konumları önemli değildir.

Çizgi veya 1D dedektör: Ayrıca konuma duyarlı dedektör olarak da adlandırılır yani fotonlar dedektör penceresindeki konumlarına göre 2θ yönünde sayılır.

Alan veya 2D dedektörü: Çizgi dedektörlerine benzer ancak yoğunluklar 2θ eksenine dik olarak da tespit edilir.

4.8.1. Dedektör tipleri

Modern toz difraktometrelerinde uygulamaya bağlı olarak farklı tipte dedektörler kullanılabilir. Aşağıda en yaygın türler sunulmaktadır.

4.8.1.1. Nokta dedektörleri

Hemen hemen tüm kırınım uygulamaları için iki tip nokta dedektörü yaygın olarak kullanılmaktadır: gazla doldurulmuş oransal sayaçlar ve sintilasyon sayaçları. Uygun dedektörün seçimi büyük ölçüde tüp anot malzemesinin seçimine bağlıdır.

4.8.1.1.1. Gaz orantılı sayaç

Gazla doldurulmuş orantılı sayaçlar x-ışını fotonları için bir giriş penceresine sahip metal bir silindirden oluşur. Silindir yüksek voltajlı pozitif potansiyele bağlı ince bir tel ile enine kesite sahiptir. Dedektör argon veya ksenon gibi soy bir gazla doludur. Gelen x-ışını fotonu sayma gazının atomlarını iyonize eder. İyonizasyon elektronları tele doğru hızlandırılır ve diğer atomları iyonize eder (yük ıçığı). Sayma telinde emilen x-ışını fotonunun enerjisiyle orantılı genliğe sahip bir darbe üretilir ve bir darbe yüksekliği ayırıcısı tarafından kaydedilir. Bu dedektör tipi Cu $K\alpha$, Co $K\alpha$ ve Cr $K\alpha$ radyasyonu gibi

dalga boyları için uygun seçimdir. Dedektör çok düşük bir arka plana ve iyi bir enerji çözünürlüğüne sahiptir.

4.8.1.1.2. Sintilasyon sayacı

Sintilasyon sayaçları bir kristal ve bir foto çoğaltıcıdan oluşur. Kristal bir x-ışını fotonunu UV veya görünür bir fotona dönüştürme yeteneğine sahiptir. Gelen x-ışını fotonu kristalde emilir (örneğin: Tl katkılı NaI). Ortaya çıkan ışık darbesi foto çoğaltıcı tarafından emilen x-ışını fotonunun enerjisine orantılı bir genlik olarak kaydedilir. Sintilasyon dedektörleri Cu Ka radyasyonu için gaz orantılı sayaçlardan daha düşük bir enerji çözünürlüğüne sahiptir. Ancak kısa dalga boyları için tercih edilirler (örn. Mo Ka veya Ag Ka). Nokta dedektörlerinin uygulamalarına ilişkin temel özellikleri şunlardır: yüksek dinamik aralık, kırınımlı ışın monokromatörü kullanma imkânı, düşük (arka plan) gürültü, odaklama veya paralel ışın geometrisi ile kullanılabilirlik, uygun maliyet.

4.8.1.1.3. Hat dedektörleri

Hat dedektörleri 2θ 'da belirli bir açısal aralığı kapsar. Çok sayıda bitişik tek dedektöre benzerler. Hat dedektörleri bu nedenle nokta dedektörlerinden çok daha hızlıdır. Piyasada farklı türleri bulunmaktadır. Dedektör nokta tespit modunda, hat tespit modunda ve alan dedektörü olarak kullanılabilir. Bu aynı zamanda onu çok geniş bir dinamik aralık gerektiren epitaksiyel katmanların, reflektometrinin ve küçük açılı x-ışını saçılımının ölçümleri için ideal dedektör haline getirir. Enerji çözünürlüğünü iyileştirmek ve numune floresansını bastırmak için ikincil monokromatörler yalnızca bu dedektörler için mevcuttur.

4.8.1.1.4. Alan dedektörleri

Alan dedektörleri Debye halkalarının daha büyük kısımlarını ve hatta halkaların tamamını düşük açılarda kaydedebilir. Mikro kırınım ve doku analizi gibi özel uygulamalar için uygundur. Ayrıca tek kristal kırınımında da yaygın olarak kullanılırlar

4.9. Taramalı Elektron Mikroskobu

Taramalı elektron mikroskobu numunelerin yüksek çözünürlüklü görüntülerini ve ayrıntılı yüzey bilgilerini elde etmek için kullanılan çok yönlü bir tekniktir. Bir numunenin yüzeyini taramak ve optik mikroskop ile karşılaştırıldığında çok daha yüksek çözünürlükte görüntüler oluşturmak için odaklanmış bir elektron ışınını kullanan bir tür elektron mikroskobudur. SEM cihazlarının çözünürlüğü < 1 nanometreden birkaç nanometreye kadar değişebilir. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) bir numunenin yüzeyi üzerinde odaklanmış bir elektron akışını yansıtır, tarar ve özel dedektörler kullanılarak üretilen farklı sinyalleri toplar. Işındaki elektronlar numune içindeki atomlarla etkileşime girerek yüzeyin topografyası ve bileşimi hakkında bilgi elde etmek için kullanılacak çeşitli sinyaller üretir. Görüntüler ışının konumunu dedektör(ler) tarafından elde edilen elektronların yoğunluğuyla ilişkilendiren yazılım kullanılarak harici bir monitörde gerçek zamanlı olarak görüntülenir. İkincil elektron dedektörü (SED) ve geri saçılmış elektron dedektörü (BSD) SEM’de yüksek çözünürlüklü görüntüleme için kullanılan en yaygın iki dedektör türüdür. Yüzey bileşiminin mikro analizine enerji dağılımlı x-ışını spektroskopisi (EDS) dedektörleri kullanılarak erişilebilir. SEM’in benzersiz konfigürasyonu sonuçta çözünürlüğünü ve mevcut görüntüleme modlarını belirleyecektir.

SEM kullanılarak çok çeşitli katı malzemeler doğrudan analiz edilebilir. Biyolojik malzemeler ve yalıtım numuneleri yüzey şarjını ve ışın hasarını azaltmak için genellikle düşük vakumlu veya düşük kV görüntüleme gibi özel görüntüleme gerektirir. Yalıtım numuneleri şarjı en aza indirmek için ince bir altın veya platin tabakasıyla püskürtülerek kaplanabilir.

4.9.1. Mikroskopta neden ışık yerine elektronlar kullanılıyor?

Yeterli ışık verildiğinde insan gözü herhangi bir ek lensin yardımı olmadan uzayda 0,2 mm aralıklı iki noktayı ayırt edebilir. Bu mesafeye gözün çözme gücü veya çözünürlüğü denir. Bu mesafeyi büyütmek ve gözün birbirine 0,2 mm’den daha yakın olan noktaları görmesini sağlamak için bir mercek veya bir mercek takımı (mikroskop) kullanılabilir. Modern bir ışık mikroskobunun maksimum büyütmesi yaklaşık 1000x’tir. Mikroskobun

özme gücü sadece lenslerin sayısı ve kalitesiyle değil aynı zamanda aydınlatma için kullanılan ışığın dalga boyuyla da sınırlıdır. Mikroskop özünürlüğü Rayleigh kriteri ile tanımlanabilir (Williams vd., 2009):

Işık Mikroskobu teorik çözünürlüğü:

$$\delta = 0.61 \lambda / \mu \sin \beta \quad (4.8)$$

δ = çözülebilir en küçük mesafe (yani çözünürlük), λ = dalga boyu, μ = görüntüleme ortamının kırılma indisi, β = mikroskobun açıklığının yarı açısıdır. Bu denklem görüntüleme sürecinin kırınım ile sınırlı olduğunu yani kusurlu lensler veya optik yanlış hizalamalar gibi diğer faktörlerin çözünürlüğü etkilemediğini varsayar. Başka bir deyişle bu çözünürlüğün teorik sınırıdır. $\mu \sin \beta$ 'yi (yani sayısal açıklığı) bire basitleştirmek, ışık mikroskobu çözünürlüğü için gelen ışığın dalga boyunun yaklaşık yarısı kadar genel bir kural belirler.

Beyaz ışığın dalga boyu 400 ile 700 nanometre (nm) arasında değişirken bu aralığın ortalama dalga boyu 550 nm'dir. Işık mikroskobunda (beyaz ışık kullanılıyorsa) yaklaşık 200–250 nm'lik teorik çözünürlük (görünürlük değil) sınırı değeri vardır.

Işık mikroskoplarında dalga boyunun sınırlayıcı bir faktör olmasından dolayı geliştirildi. Elektronların dalga boyları çok daha kısa olduğundan daha iyi çözünürlük sağlandı. Dalgalar ve parçacıklar arasındaki ikiliğe ilişkin olarak de Broglie bağıntısından istifadeyle gelen elektronun dalga boyunu elektron mikroskobunun hızlanma voltajına bağlı olduğunu söyleyebiliriz (Williams vd., 2009):

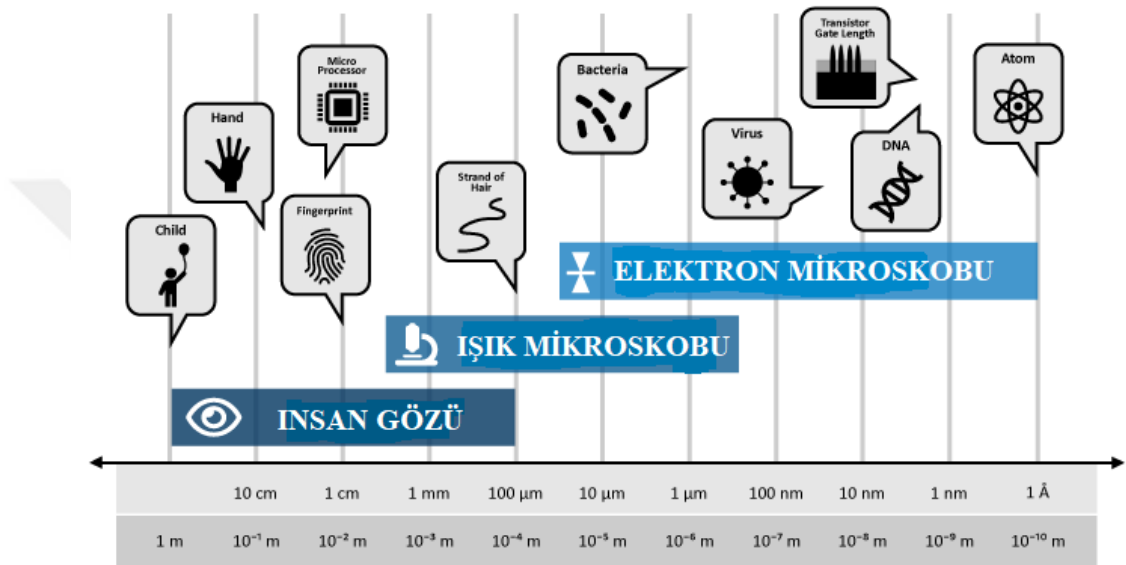
Hızlı elektronun dalga boyu:

$$\lambda = h / \sqrt{2meV} \quad (4.9)$$

olup, h = Planck sabiti ($6,626 \times 10^{-34}$ m²kg/s), m = elektronun kütlesi ($9,109 \times 10^{-31}$ kg), e = elektron yükü ($1,60 \times 10^{-19}$ C), V = hızlanma voltajıdır.

SEM'de hızlanma voltajları 5 keV'den 30 keV'ye kadar değişir. En güçlü elektron mikroskopları yani transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ve taramalı transmisyon elektron mikroskobu (STEM) 300 keV veya daha yüksek bir değere ulaşabilir.

Hızlandırılmış elektronların dalga boyu ile görünür ışığın dalga boyu arasındaki bu büyük fark elektron mikroskoplarına malzemeleri atomik ve nanometre uzunluk ölçeklerinde görselleştirme görevini üstlenme potansiyelini veren şeydir. Pratikte kusurlu elektromanyetik lensler nedeniyle kırınım sınırlı çözünürlük gerçekte elde edilememektedir. Bununla birlikte SEM gibi elektron mikroskopları ışık mikroskoplarına göre çok büyük çözünürlük iyileştirmeleri sunar (Şekil 4.10.).

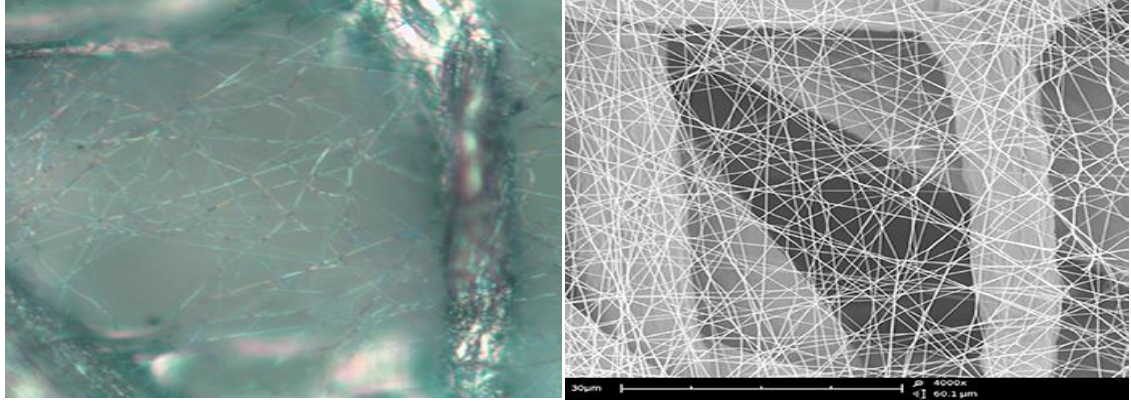


Şekil 4.10. Farklı mikroskop türlerinin erişebildiği uzunluk ölçeklerinin karşılaştırılması

4.9.2. Optik Mikroskop ve Taramalı Elektron Mikroskobu

Optik (ışık) mikroskobu SEM ile karşılaştırıldığında çözünürlük ve alan derinliğinden yoksundur. Alan derinliği mikroskopide görüntünün makul ölçüde odakta olan kısmını tanımlayan önemli bir kavramdır (Zhou vd., 2007). Şekil 4.11’de filtreleme için kullanılan nanofiber katman, optik mikroskop ve bir SEM kullanılarak aynı alan üzerinde görüntülenmektedir. Optik görüntüde ışık mikroskobunun doğasında olan zayıf alan derinliği nedeniyle fiberlerin çoğu bulanık ve odak dışı görünmektedir. Bu aynı zamanda numunenin tam bir görünümünü oluşturmak için, farklı odak uzaklıklarında birden fazla görüntünün elde edilmesi gerektiği anlamına da gelmektedir. Öte yandan SEM’de analiz gerçekleştiğinde, bölgenin tamamına net bir şekilde odaklanılmaktadır. SEM’de kontrast

çok daha iyi hale getirilerek fiber boyutlarının daha doğru tespit edilmesine ve potansiyel ölçümlerine olanak sağlanabilmektedir.



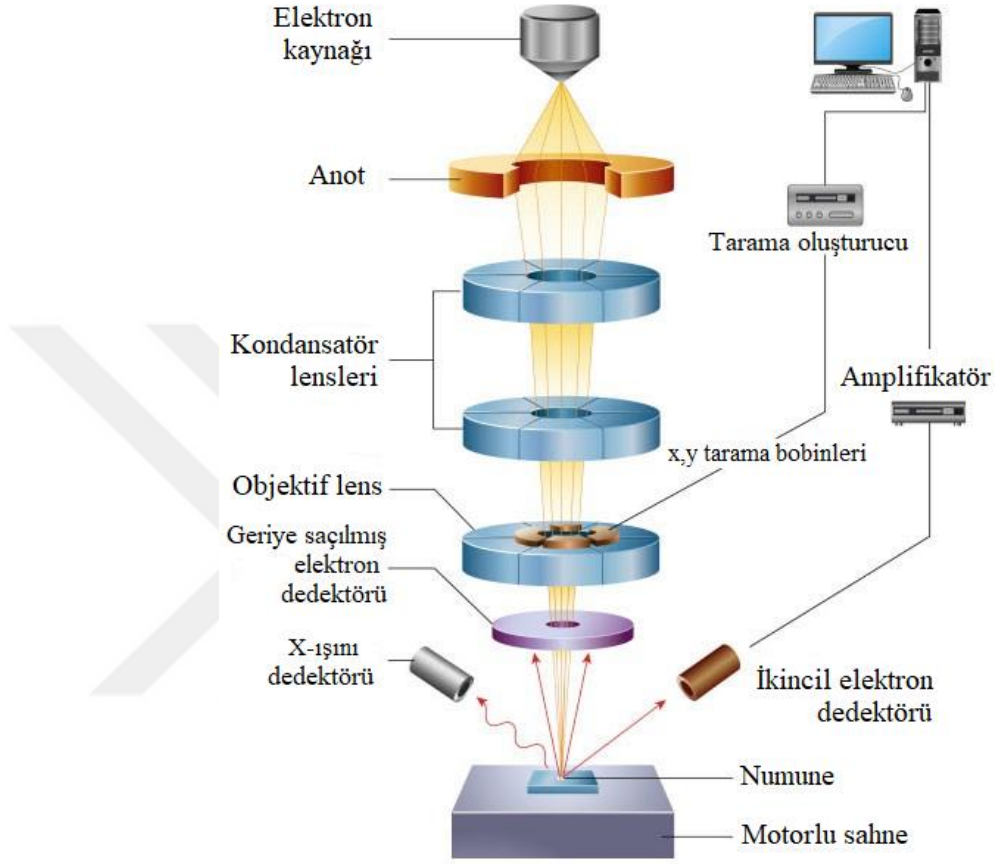
Şekil 4.11. Nanoliflerin optik mikroskop görüntüsü ve 4000X'te taramalı elektron mikroskobu görüntüsü

4.9.3. Taramalı elektron mikroskobu nasıl çalışır?

Elektron tabancasında elektronlar sütunun tepesinde üretilir ve belirli bir hızlanma voltajında (1 keV–30 keV) sütun boyunca hızlandırılır. Yoğunlaştırıcı lensler ve açıklıklar, ışın çapını küçültecek şekilde hareket eder. Sütundaki son mercek, ışını numune yüzeyine odaklayan objektif mercektir. Bir SEM'deki ışının çapı elektron tabancasının tipine, hızlanma voltajına ve mercek konfigürasyonuna bağlı olarak nanometreden 20 nanometreye kadar değişebilir. Numunenin kendisi hazne alanındaki bir aşamaya monte edilir ve hem sütun hem de hazne bir pompa kombinasyonu ile vakum altında tutulur. Vakumun seviyesi mikroskobun tasarımına bağlı olacaktır. Bazı mikroskoplar düşük vakumlu görüntülemeyi desteklemek için numune odasının sütunun geri kalanından daha düşük bir vakum seviyesinde tutularak değişken pompalamaya izin verir (Şekil 4.12).

Elektron ışınının numune üzerindeki konumu, objektif merceğin üzerinde bulunan tarama bobinleri tarafından kontrol edilir. Bu bobinler ışının numunenin X-Y düzlemindeki yüzeyi üzerinde taranmasına olanak sağlar. Taranan ışın numuneye çarparak ikincil elektronlar, geri saçılan elektronlar ve karakteristik x-ışınları gibi çeşitli sinyaller üretir. Bu sinyaller daha sonra uygun dedektörler tarafından tespit edilir. Tarama oluşturmaya özel

yazılım içeren harici bir bilgisayarla birlikte tarama oluşturunca gelen bilgileri (her zaman periyodunda ışının X, Y konumunu içeren) dedektör tarafından elde edilen yoğunlukla senkronize edebilir ve gri tonlamalı bir görüntüleme yapılabilir.



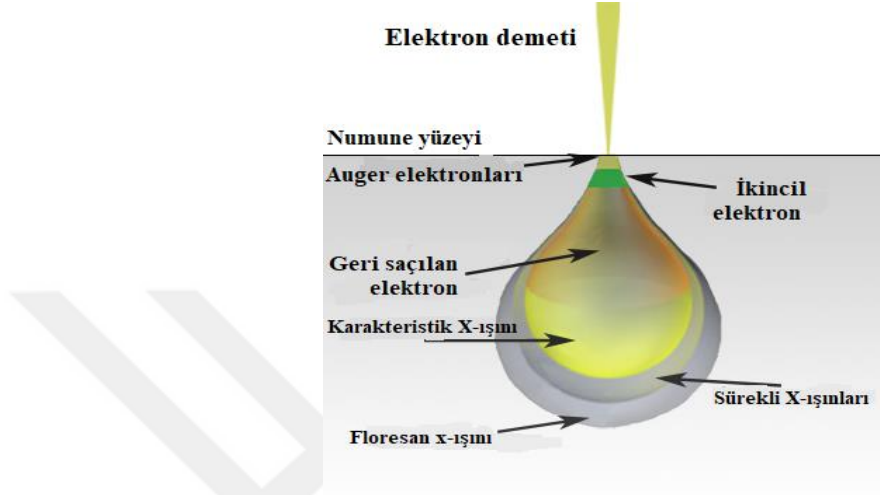
Şekil 4.12. Taramalı elektron mikroskobunun şeması

Elektron ışınının her X, Y konumunda kalma süresine bağlı olarak sinyal-gürültü oranında modüle edilebilir. Büyütme taranan alanın boyutundan kaynaklanmakta olup burada daha yüksek büyütme giderek daha küçük taranan alanlara karşılık gelir. Belirli bir tarama alanı içinde piksel sayısı da ayarlanabilir ki bu da görünür çözünürlüğü etkileyebilir.

4.9.4. Örnek-Elektron etkileşimleri

Elektron ışını numunenin yüzeyine çarptığında numunedeki atomlarla etkileşime girmeden önce numuneye birkaç mikron derinliğe kadar nüfuz eder (Zhou vd., 2007). Etkileşim hacminin boyutu birincil elektronların hızlanma voltajına ve örnek malzemenin

yoğunluğuna bağlı olacaktır. Düşük yoğunluklu numuneler gözyaşı damlası etkileşim hacmini kolaylaştırırken daha ağır elementlerden oluşan numuneler yarım küre etkileşim hacmine sahiptir. Daha yüksek hızlanma voltajı daha büyük bir penetrasyon derinliğine neden olur.



Şekil 4.13. Elektron ışını etkileşiminin şeması

Elektron ışınının numuneyle etkileşimi sonucu birçok sinyal üretilir. SEM’de en çok kullanılan sinyaller ikincil elektronlar, geri saçılan elektronlar ve karakteristik x-ışınlarıdır (Şekil 4.13.). Bazı malzemeler katodoluminesans olarak bilinen bir işlem yoluyla elektron ışını tarafından uyarıldığında fotonlar yayabilir. İkincil elektronlar öncelikle topografik görüntüler için kullanılır çünkü numunenin yüzeyine daha yakın üretilirler. Elastik olmayan saçılma veya birincil ışın elektronundan numunedeki bir atoma enerji aktarımını içeren etkileşimler nedeniyle ikincil bir elektron yayılır. İkincil elektronların enerjisi 50 eV’den azdır. İkincil elektronlarla toplanan görüntüler yaklaşık olarak ışın çapı büyüklüğündeki nispeten küçük etkileşim hacmi nedeniyle en iyi yanıl çözünürlüğe sahip olacaktır. Yüksek açılarda ($> 90^\circ$) elastik saçılma numune yüzeyi üzerinde geri saçılan elektronların emisyonuna neden olur. Birincil ışın numunedeki bir atomun çekirdeğine yaklaştığında pozitif yük hızlı elektronun sapmasına neden olarak yüzeyden salınmasına neden olur. Geri saçılan elektronların verimi ortalama atom numarasına bağlıdır ki burada daha fazla pozitif yüke sahip olan daha ağır elementler

daha yüksek verimle sonuçlanır. Bu nedenle geri saçılan elektronlarla elde edilen görüntülerdeki kontrast, yüzey kompozisyonu hakkında bilgi sağlar.

İyonlaşmış bir atom iç kabuk elektron deliğini daha yüksek bir yörüngeden gelen bir elektronla doldurarak temel duruma geçtiğinde karakteristik x-ışınları yayılır. İki elektron kabuğu arasındaki enerji farkı karakteristik x-ışını enerjisine eşdeğerdir ve kaynaklandığı belirli elementin parmak izini almak için kullanılabilir. Geri saçılan elektronlarla karşılaştırıldığında elastik olmayan saçılmadan kaynaklanan karakteristik x-ışınları numunede bulunan elementlerin kesin olarak tanımlanmasına olanak tanır. EDS verilerinde gözlemlenen karakteristik x-ışını tepe noktalarına ek olarak örnekle etkileşime giren elektronların yavaşlaması yoluyla bir süreklilik (arka plan) sinyali üretilir.

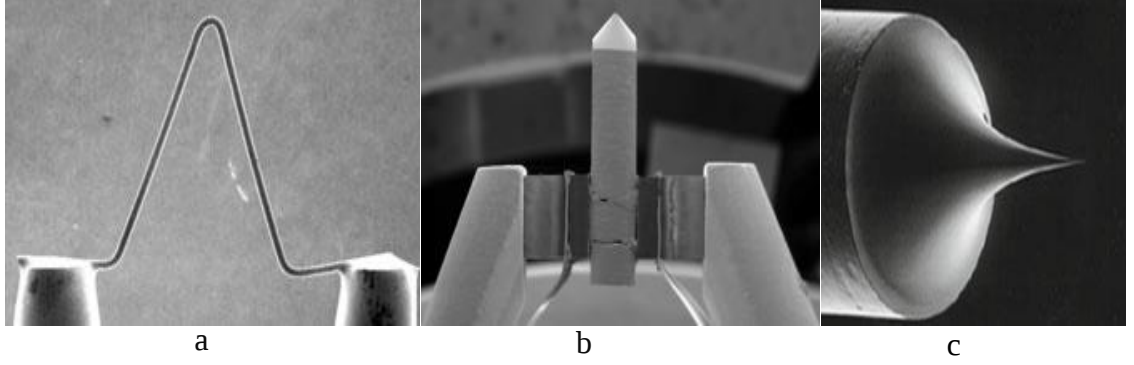
Bir SEM’de elde edilen maksimum çözünürlük elektron ışınının nokta boyutu ve elektron ışınının numuneyle etkileşim hacmi dahil olmak üzere birçok faktöre bağlıdır. Atomik çözünürlük sağlayamasa da bazı SEM’lerde 1 nm’nin altında çözünürlük elde edebilir.

4.9.5. SEM’deki bileşenler

Ana SEM bileşenleri şunlardır: Elektron kaynağı (tabanca), Kondansatör lensleri, Objektif lens, X-Y tarama bobinleri ve tarama jeneratörü, Dedektörler, Nümine odası, Görüntülemek için bilgisayar ve ekran, Harici vakum pompası/pompaları

4.9.5.1. Elektron kaynağı

Elektron kaynağı taramalı elektron mikroskopunun (SEM) önemli bir unsurudur çünkü analitik performansını önemli ölçüde etkiler. Yaygın olarak elektron tabancası olarak adlandırılan bu bileşenin; sütun içindeki mercekler aracılığıyla numuneye odaklanabilen, parlak ve tutarlı bir elektron akışı yayması gerekir. SEM’ler tipik olarak üç yaygın tipte elektron yayıcı kullanır: tungsten filamanları, katı hal heksaborür kristalleri ve alan emisyon tabancaları (Şekil 4.14.).



Şekil 4.14. (a) Tungsten filament kaynağı (b) Katı hal kristal elektron kaynağı-Katı hal kristal elektron kaynağının SEM görüntüsü (c) FEG elektron kaynağı

4.9.5.1.1. Tungsten (W) filaman

Bu filamen elektron üretmek için dirençli bir şekilde ısıtılan yaklaşık 100 µm uzunluğunda ters V şeklinde bir tungsten telinden oluşur. En temel elektron kaynağı türüdür ve ilk nesil elektron mikroskopları için geliştirilmiştir. Düşük maliyetli olması nedeniyle bugüne kadar en yaygın elektron kaynağı türü olmaya devam etmektedir. Bir tungsten filamenin emisyon alanı nispeten büyüktürki bu da çözünürlüğün aynı zamanda düşük olduğu anlamına gelir. Son derece yüksek sıcaklıklarda (~2800 K) çalıştılarından tungsten zamanla kademeli olarak buharlaşarak kolonun kirlenmesine neden olur. Bu aynı zamanda tungsten filamanlarını yaklaşık 100 saatlik ışınlama işleminden sonra ani yanmaya karşı duyarlı hale getirir.

4.9.5.1.2. Lantan heksaborür (LaB₆) veya seryum heksaborür (CeB₆)

Bu kaynaklarda termiyonik emisyon için keskin uçlu hassas cilalanmış LaB₆ veya CeB₆ kristali kullanır. Heksaborür kristalleri tungstenden daha düşük bir iş fonksiyonuna sahip olduğu için daha parlak bir emisyon üretebilir ve herhangi bir hızlanma voltajında on kat daha fazla elektron yaymalarına olanak tanır. Bu kaynakların yüksek parlaklık özelliği onları yüksek performanslı SEM cihazları için popüler bir seçim haline getirir. İki önemli avantaj sağlarlar: daha yüksek sinyal-gürültü ve daha yüksek çözünürlük. Tungsten ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde daha stabildirler ve bu da onların nadiren damgalama ayarı gerektirmesine ve 10-15 kat daha uzun bir çalışma ömrüne ihtiyaç duymalarına olanak tanır. Bu kaynaklar aynı zamanda tükenmek yerine zaman içinde yavaş yavaş

bozularak planlı kaynak değışikliklerinin gerçekleşmesine olanak tanır. LaB₆ ile karşılaştırıldığında CeB₆ kaynakları buharlaşmaya karşı daha iyi direnç ve dolayısıyla daha uzun kullanım ömrü sunar.

4.9.5.1.3 Saha emisyon tabancası (FEG)

FEG kaynağı elektron ışını üretmek için alan elektron emisyonunu kullanan 100 nm’den daha küçük çok keskin uçlu bir tungsten telidir. Süreç elektronları çıkarmak için uca bir elektrik alanının uygulandığı ve onları kolondan aşağı doğru hızlandırmak için ikinci bir alanın kullanıldığı elektron tünellemesi yoluyla çalışır. Schottky FEG’ler genellikle SEM’de kullanılır. Bu kaynaklar alan destekli termiyonik yayıcılar olarak işlev görür. FEG kaynakları en yüksek parlaklık ve tutarlılığa sahip elektron ışınları üreterek en yüksek çözünürlüklerin elde edilmesini sağlar.

4.9.5.2. Lensler

Elektromanyetik mercekler SEM’deki elektron ışını manipüle etmek için kullanılır. Mercek bakır telden yapılmış bir solenoidten oluşur. Solenoidten geçen akımın şiddetine bağı olarak uygulanan manyetik alan şiddeti değışir. Elektronlar bu manyetik alandan geçerken, eksen dışı elektronlar optik eksene doğru bükölür ve bu da mercekten belirli bir mesafede bir ışın geçişinin oluşmasına neden olur. Yoğunlaştırıcı merceğin temel amacı elektron kaynağından yayılan birincil ışının çapını azaltmaktır. Bir dizi yoğunlaştırıcı mercek kaynaktan sütuna doğru hareket eden elektron ışını odaklar. Eksen dışı elektronları dışarıda bırakmak ve ışın çapını daha da azaltmak için bir yoğunlaştırıcı açıklık da kullanılabilir. Işın ne kadar dar olursa yüzeye temas ettiğinde sahip olacağı nokta o kadar küçük olur; dolayısıyla ‘nokta boyutu’ terimi kullanılır.

4.9.5.3. Tarama bobini

Işın odaklandıktan sonra, ışının X ve Y eksenlerinde saptırılması için tarama bobinleri kullanılır böylece numunenin yüzeyi üzerinde raster tarzda tarama yapılır. Tarama bobinleri dedektörleri ve görüntünün harici bir monitörde görüntülenmesini kontrol eden yazılımla senkronize edilerek gerçek zamanlı görüntülerin izlenmesine olanak tanır.

4.9.5.4. Numune odası

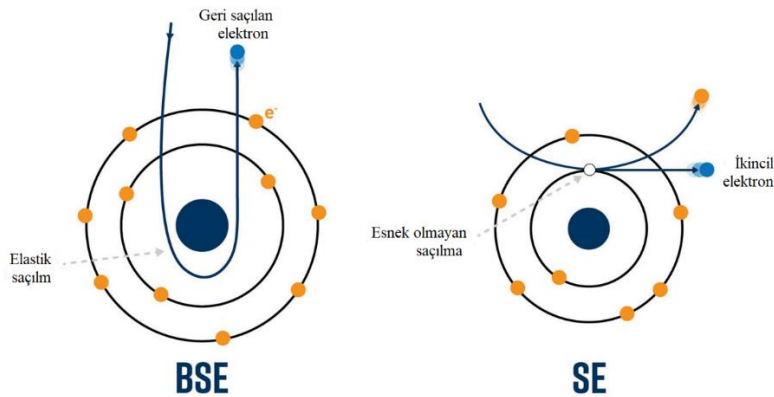
Numune odası: bir numüne döndürme mekanizmasıdır bir çeviri aşamasını, eğim ve döndürme cihazlarını, harici cihazlara elektrik geçişlerini, kriyojenik soğutma veya ısıtma için sıcaklık kontrol aşamalarını, optik kameraları ve numunenin analiz edilmesine yardımcı olacak çeşitli diğer cihazları içerebilir.

4.9.5.5. Dedektörler

Elektron ışını (SEM) bir numuneyle etkileşime girdiğinde birçok olay meydana gelebilir. Genel olarak ikincil elektronları, geri saçılan elektronları veya karakteristik x-ışınlarını ayırt etmek için farklı dedektörlere ihtiyaç vardır. Hızlanma voltajına ve örnek yoğunluğuna bağlı olarak sinyaller farklı penetrasyon derinliklerinden gelir.

4.9.5.5.1. Geri saçılan elektron dedektörü (BSD)

Geri saçılan elektron dedektörü (BSD) elastik olarak dağılmış elektronları tespit eder. Bu elektronların enerjisi daha yüksektir ve numune yüzeyinin altından kaynaklanır. Bu nedenle bir BSD görüntüsünün çözünürlüğü ikincil elektron dedektörü (SED) ile elde edilen bir görüntüye kıyasla daha kötü olacaktır. BSD'nin kullanılması daha düşük vakum seviyelerine izin verir, numune hazırlama gerekliliklerini azaltır ve ışın hasarını en aza indirir.



Şekil 4.15. Geri saçılan elektronların (Backscattered electrons BSE) ve ikincil elektronların (Secondary electron-SE) üretimine karşı şematik diyagram

Geri saçılan elektronların miktarı ve yönü numunenin bileşimi ve topografisine bağlı olarak değişiklik gösterir (Şekil 4.15.). Geri saçılan elektron görüntüsünün kontrastı örnek malzemenin atom numarası (Z), birincil ışının hızlanma voltajı ve birincil ışına göre numune açısı (eğim) dahil olmak üzere birçok faktöre bağlıdır. Daha yüksek atom numaralı elementler daha düşük atom numaralı elementlere göre daha fazla geri saçılan elektron üretir. BSD görüntüleri farklı kompozisyonlara sahip aşamaları hızlı bir şekilde tanımlamak için kullanılabilir.

En yaygın BSD türü katı hal sensöründen oluşur. Gelen elektronlar yarı iletken sensör malzemesinde elektron-delik çiftleri oluşturarak geri saçılım elektron verimiyle orantılı bir akım üretir. Dört çeyrekli bir BSD numunenin üzerindeki optik eksen etrafındaki bir halka içinde yapılandırılmıştır. Bu tasarım çok sayıda geri saçılan elektronun yakalanmasına ve her çeyrekte bireysel sinyaller sağlanmasına olanak tanıyarak temel kontrast (kompozisyon) görüntüleme ve topografik görüntüleme modlarına olanak tanır. Tüm kadranslardan gelen sinyallerin eklenmesiyle bileşimsel kontrast sergileyen geleneksel BSD görüntüleri oluşturulabilir.

4.9.5.2. İkincil elektron dedektörü (SED)

SEM için ikincil elektron dedektörü (SED) malzemeden bağımsız çözünürlükte görüntüler sunar. SED görüntüleri numune yüzeyine yakın olarak üretilen elastik olmayan şekilde dağılmış elektronların görselleştirilmesine olanak tanır ve mümkün olan en iyi çözünürlükle topografik bilgi sağlar. SED görüntülerinde malzeme bileşimi bilgisi mevcut değildir. İkincil elektronlar Everhart-Thornley (E-T) dedektörüyle tespit edilir. ET dedektörü Faraday kafesi içindeki bir sintilatörden oluşur ve numunenin üzerinede bir tarafa yerleştirilir. Bir sintilatörün elektronları ışığa (fontonlara) dönüştürdüğü düşük enerjili elektronları çekmek için Faraday kafesine pozitif bir öngerilim uygulanır. Foton sinyalleri daha sonra son sinyali vermek üzere bir fotoçoğaltıcı tüp kullanılarak güçlendirilir.

4.9.5.6. Enerji dağılımı spektrometre (EDS)

Enerji dağılımı spektrometre. SEM görüntüleme sırasında numuneden yayılan karakteristik x-ışınlarından yararlanır. Mikron ölçeğinde element bileşimini tanımlamak için hızlı, doğru ve tahribatsız bir yöntemdir. Elektron ışını bir iç kabuk elektronunun (örnekteki bir atoma ait olan) yerini bir dış kabuk elektronuyla değiştirdiğinde karakteristik x-ışınları yayılır. Her elementin dış ve iç elektron kabukları arasında benzersiz bir enerji farklılığı olduğundan, tespit edilen x-ışınları element tanımlamasıyla ilişkilendirilebilecek belirli enerjilerdedir. EDS verileri bir noktada veya bir çizgi boyunca elde edilebildiği gibi bir alan üzerinden de haritalanabilmektedir.

Silikon sürüklenme dedektörü (SDD) SEM cihazında kullanılan en yaygın EDS dedektör türüdür. SDD x-ışınlarını emerek elektron-delik çiftleri üreten bir katı hal sensöründen oluşur. Bir sinyal toplama süresi boyunca dedektörde üretilen yükün ölçülmesiyle neredeyse tüm elementlerin tanımlanmasına olanak tanıyan bir sinyal yoğunluğu ve x-ışını enerjisi spektrumu elde edilebilir. Çoğu SDD numuneler değiştirilirken dedektörün uygun vakum seviyelerini koruması için fiziksel bir bariyer sağlayan ince bir pencere içerir. Pencere belirli malzeme ve kalınlığa bağlı olarak düşük enerjili x ışınlarının dışındaki tüm ışınların geçmesine izin verir.

4.10. IR Spektrumun Kökeni ve Karakteristikleri

Bir moleküldeki iki atom arasındaki bağ sert değildir, esnekliğe sahiptir ve moleküldeki atomlar yerlerinde sabit kalmazlar. Sürekli bir şekilde ortalama konumlarına göre hareket halindedirler yani bağ sürekli olarak genişleyip daralmakta titreşim hareketi geçirmektedir. Moleküler titreşim hareketi kuantize olup yalnızca belirli (kesirli) enerji değerini alabilir. Kızılötesi bölgedeki elektromanyetik radyasyon ile bu kuantize enerji seviyeleri arasında geçişle olmakta ve bir IR spektrumu yayılanmaktadır. Moleküllerin kuantize titreşim enerji seviyeleri arasında uyarılma gerçekleştiği için IR spektroskopisi aynı zamanda titreşim spektroskopisi olarak da bilinir.

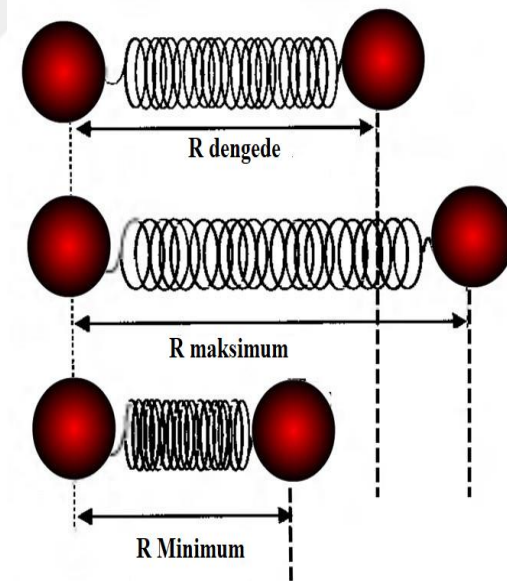
4.10.1. İki atomlu moleküllerin titreşimleri

Titreşen bir iki atomlu molekülü basit bir harmonik salınım hareketi olarak görselleştirebiliriz (Şekil 4.16). A ve B gibi iki atomun bir bağ ile birleştirilmiş olduğu varsayılmaktadır. Molekül ortalama konumu etrafında salınım yapmaktadır. Yani bağ uzunluğu sürekli olarak artmakta ve azamaktadır.

Moleküldeki bir bağın titreşim frekansına titreşim frekansı denir. İki atomlu bir molekülün titreşim frekansı, (4.10) şeklinde formülle verilir.

$$\omega_{osc} = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \text{ Hz} ; \quad \mu = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2} \quad (4.10)$$

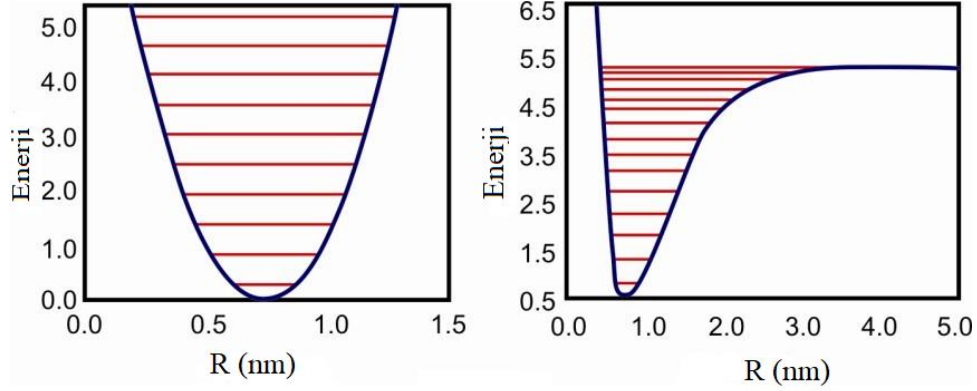
Burada, k kuvvet sabiti (bağın gücünü ölçen), μ indirgenmiş kütle (reduced mass) olarak adlandırılır. Harmonik bir osilatör için kuantize enerji seviyeleri Şekil 4.16.'da verilmiştir.



Şekil 4.16. Harmonik bir salınımın temsili

Gerçek moleküller harmonik osilatörler gibi değildir ve bunlar bazı anharmoniklik öğelerine sahiptir yani denge pozisyonu etrafında düzenli olarak genişlemez ve daralmazlar. Bu durumda enerji seviyeleri Şekil 4.17.b'de gösterildiği gibi değişirler. Anharmonik bir osilatör için enerji seviyeleri arasındaki fark enerji seviyesini

yükselttikçe (ν 'nin daha büyük değerleri için) azalmaya devam ederken, harmonik bir osilatör için enerji seviyeleri arasındaki fark sabittir.



Şekil 4.17. a) Harmonik ve b) Anharmonik osilatör için potansiyel enerji eğrileri

4.10.2. Kızılötesi spektrumu gözlemlene için gerekli koşul

Elektromanyetik radyasyonun titreşen molekülle etkileşime geçebilmesi için, molekülün titreşimi sırasında dalgalanan veya salınan bir dipol momentine sahip olması gereklidir. Molekül ile radyasyon arasındaki etkileşim için gerekli bir koşul olarak adlandırılır. Bu türden bir dipol momentinin olmaması durumunda radyasyon titreşen molekülle etkileşime geçemez ve molekülün titreşimi Kızılötesi (IR) etkisi göstermez. Örneğin H_2 gibi homonükleer iki atomlu bir molekül, bir dipol momentine sahip olmadığı ve titreşim sırasında dalgalanan bir dipol momentini üretmediği için IR spektrumu vermez. Diğer taraftan HBr gazının değişken dipol momentine sahiptir ve molekül titreştikçe bu momentin büyüklüğü değişir. Bu nedenle HBr gazı elektromanyetik radyasyonun IR bölgesini absorbe eder yani molekül IR etkili bir moleküldür. İki atomlu bir molekül yalnızca bir titreşim modunu gösterebilir. Ancak daha büyük (poliatomik) moleküller birçok farklı titreşim moduna sahip olabilir.

4.10.3. Çok atomlu moleküllerin titreşimleri

İki atomlu bir molekülün sadece bir titreşim hareketini gerçekleştirme olasılığı vardır çünkü sadece bir bağ vardır ve molekül lineerdir. İki atomdan daha fazlasını içeren bir molekülde birden fazla bağ bulunabilir ve bu bağlar arasında açı olabilir. Örneğin su

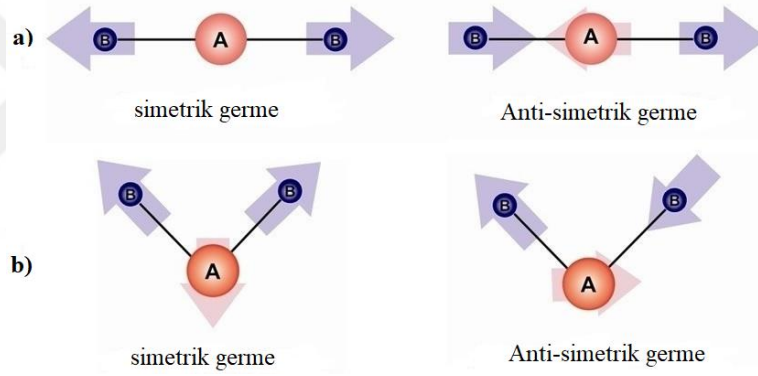
yaklaşık 104.5° 'lik açıda iki O—H bağı bulunan üç atomlu bir moleküldür. Bu tür bir molekül, molekülün her iki bağının da simetrik şekilde yani birlikte titreşebileceği veya asimetrik bir titreşim gösterebileceği yada titreşimde bağ açısında bir değişiklik olabileceği daha fazla şekildedeki titreşebilir. Daha büyük bir molekül için bu tür titreşim modlarının olası sayısını nasıl belirleyebiliriz? N atom içeren bir molekül için molekülü tamamen tanımlamak için $3N$ koordinat (her bir atom için üç) belirtmemiz gerekiyor. Bu molekülün tüm bağ uzunluklarını ve açılarını sabitler. Yani molekülün $3N$ serbestlik derecesine sahip olduğunu söyleyebiliriz. Yani molekülün translasyonel, rotasyonel ve titreşimsel hareketlerini göstermektedir. Molekül üç boyutlu uzayda herhangi bir yerde hareket edebileceğinden, molekülün pozisyonu üç koordinat ile açısından belirlenebilir. Yani translasyon hareketini açıklamak veya tanımlamak için üç serbestlik derecesine ihtiyacımız vardır. Bu nedenle rotasyonel ve titreşimsel hareket için $(3N-3)$ serbestlik derecesi bulunmaktadır.

Rotasyonel modların sayısı molekülün geometrisine bağlıdır. Lineer bir molekül sadece üç eksenin ikisinde dönebilir. Molekül X ekseni boyunca uzanıyorsa, sadece Y veya Z ekseni etrafında dönebilir. Molekülü X ekseni etrafında döndürmeye çalışırsak atomların pozisyonları değişmez. Bu nedenle lineer bir molekülün üç translasyonel moduyla birlikte yalnızca iki rotasyon serbestlik derecesine sahip olduğunu söyleyebiliriz. Ancak lineer olmayan bir molekül her üç ekseninde de dönebilir yani üç rotasyon serbestlik derecesine sahiptir. Bu nedenle de lineer bir molekül için $(3N-5)$ serbestlik derecesi ve lineer olmayan bir molekül için $(3N-6)$ serbestlik derecesi bulunmaktadır. Bunlar molekülün titreşim modlarıdır. N atomlu bir lineer molekülün $(3N-5)$ ve N atomlu bir lineer olmayan molekülün $(3N-6)$ titreşim modları olacaktır. Örneğin CO_2 gibi lineer bir molekül $3(3) - 5 = 9 - 5 = 4$ titreşim moduna sahipken su, (lineer olmayan üç atomlu bir molekül) yalnızca $3(3) - 6 = 9 - 6 = 3$ titreşim moduna sahip olacaktır.

4.10.4. Vibrasyon türleri

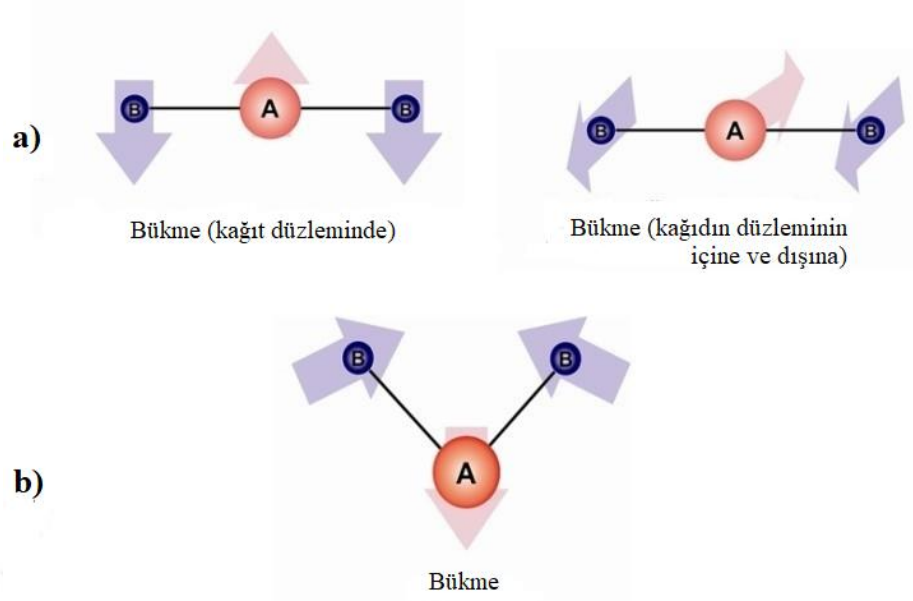
Çok atomlu bir molekül için iki tür titreşim vardır. Bunlar; uzama titreşimleri ve bükülme titreşimleridir.

i) Uzama titreşimleri: Uzama titreşimlerinde atomlar bağ eksenini boyunca hareket eder ve böylece bağ uzunluğu düzenli aralıklarla artar veya azalır. Uzama titreşimleri simetrik ve antisimetrik uzama olmak üzere iki türe ayrılır. Bir üç atomlu molekülün simetrik uzama örneğinde bir atomla bağlı iki bağ aynı anda uzar veya kısalır. Antisimetrik uzama durumunda bir bağ uzatılırken diğer bağ kısalır veya tam tersi olur. Uzama titreşimleri AB_2 tipi lineer ve lineer olmayan üç atomlu molekül örnekler Şekil 4.18.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.18. a) Lineer ve b) lineer olmayan AB_2 tipi üç atomlu molekülün uzama titreşim modları

ii) Bükülme Titreşimleri: Bükülme titreşimleri ortak bir atoma bağlı bağlar arasındaki bağ açısında bir değişiklik olduğunda meydana gelir söylenir. Lineer üç atomlu bir molekülün iki bükülme titreşimi vardır ve buna karşılık lineer olmayan üç atomlu bir molekülün Şekil 4.19.'da gösterildiği gibi yalnızca bir bükülme titreşimi vardır.

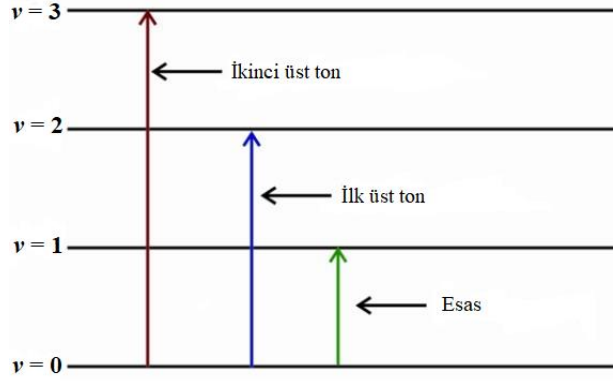


Şekil 4.19. a) Lineer ve b) lineer olmayan AB₂ tipi üç atomlu molekülün bükülme titreşim modları

Titreşen bir molekülün birkaç kuantize titreşim enerji seviyesi vardır. Bunlar arasında birçok olası geçiş olabilir ki bunlardan hangi geçişleri gözlemleyebiliriz bir soru ortaya çıkmaktadır. Bunun için seçim kuralı adı verilen önemli bir kuralı bilmemiz gerekmektedir.

4.10.5. IR spektroskopisi için seçim kuralı

Spektroskopide seçim kuralı, kuantize enerji seviyeleri arasında mümkün olan geçişleri belirtir. IR spektroskopisi için seçim kuralı $\Delta v = \pm 1, \pm 2, \pm 3 \dots$ vb. şeklindedir. Yani titreşim kuantum sayısı herhangi bir sayıda değişebilir. Başka bir deyişle molekül herhangi bir titreşim seviyesinden diğer titreşim enerji seviyesine geçebilir. Birçok geçişin olacağı ve sonuçta elde edilen spektrumun oldukça karmaşık olacağı anlamına gelir. Ancak iki atomlu bir molekül için gerçek IR spektrumu bu kadar karmaşık değildir. İki atomlu bir molekülün saf titreşim spektrumu genellikle üç sinyalden oluşur: yoğun bir sinyal, zayıf bir sinyal ve çok zayıf bir sinyal (Şekil 4.20.).



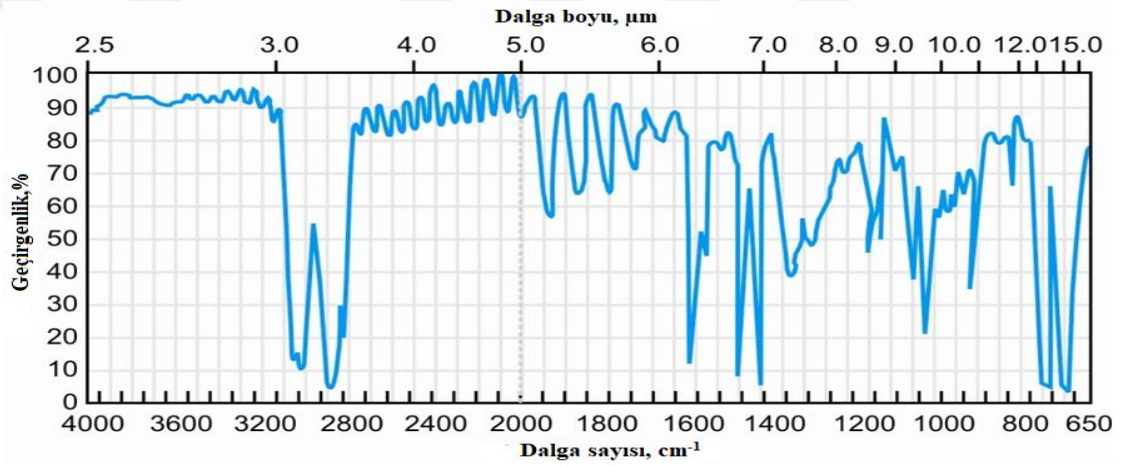
Şekil 4.20. Temel titreşim ve overtonlara karşılık gelen geçişler

Yoğun sinyale temel bant denir ve genellikle zemin durumundan ($v = 0$) birinci ($v = 1$) uyarılmış titreşim seviyesine yapılan geçişte gözlemlenir. İkinci sinyal, birinci overton olarak adlandırılan zayıf bir sinyal temel bandın yaklaşık iki katı frekansta gözlemlenir; ve zemin durumundan ($v = 0$) ikinci ($v = 2$) uyarılmış titreşim seviyesine yapılan geçişlerden kaynaklanır. Üçüncü ve en zayıf sinyal ikinci overton olarak adlandırılır ve temel bandın yaklaşık üç katı frekansta gözlemlenir. Zemin durumundan ($v = 0$) üçüncü ($v = 3$) uyarılmış titreşim seviyesine yapılan geçişlerden kaynaklanır. İki atomlu bir molekül için temel ve overtonların kökeni Şekil 4.21’de şematik olarak gösterilmiştir.

4.10.6. Çok atomlu moleküllerin IR spektrumunun doğası

Çeşitli bağlara sahip bir çok atomlu molekülün titreşim spektrumunun oldukça karmaşık olması beklenir. Gerçekten de makul bir boyutta bir molekül için IR spektrumu oldukça karmaşıktır ve elde edilen tüm sinyalleri yorumlamak neredeyse imkansızdır. Ancak olası titreşim modları IR etkinlikleri (veya etkin olmamaları) ve karakteristik grup frekansları kavramını biraz anlayarak organik moleküllerin yapısının belirlenmesinde gözlemlenen sinyalleri kullanabiliriz. Çok atomlu bir molekülün kızılötesi spektrumu sırasıyla lineer ve lineer olmayan moleküller için ($3N-5$) veya ($3N-6$) temel frekanslardaki ilgili overtonlarla birlikte bir absorpsiyon bandından oluşacaktır. Ancak deneysel olarak gözlemlenen spektrumda iki temel titreşimin toplamı veya iki temel bandın farkı nedeniyle zayıf bantlar da olabilir. Bu tür bantlara sırasıyla kombinasyon bantları ve fark bantları denir. Dahası bazen bir temel bandın ve başka bir bandın overtonunun frekansları birbirine çok yakın olabilir bu da rezonans yaparak orijinal frekanslara göre daha yüksek

ve daha düşük frekanstaki sinyallerin görünmesine neden olabilir. Bu fenomen Fermi rezonansı olarak adlandırılır. Bir moleküldeki atom sayısı arttıkça spektrum oldukça karmaşık hale gelir. N-dekan ($C_{10}H_{22}$) gibi bir molekül örneğini ele alalım. Bu molekülde 32 atom vardır. Temel titreşim modlarının sayısı $3(32) - 6 = 96 - 6 = 90$ olacaktır. İlgili overtonlar ve kombinasyon bantları ile birlikte spektrumda birkaç yüz sinyal olması beklenir. Ancak gerçek spektrumun çok daha az sayıdadır. Bu tüm titreşimlerin IR aktif olmamasından kaynaklanır. Bir titreşim modunun IR aktif olabilmesi için dipol momentinde bir değişiklik ile ilişkilendirilmiş olması gerekir. Gözlenen bu kadar çok sinyalin neden gözlemlenmediğinin diğer nedenleri ya çok zayıf olmaları ya da cihazın menzili dışında olmaları olabilir. Temsilci bir IR spektrumu Şekil 4.23 de verilmiştir.



Şekil 4.21. Temsilci bir IR spektrumu

4.10.7. IR spektrumunun özellikleri

IR absorpsiyon sinyallerinin pozisyonları X ekseninde dalga sayısı (ν) veya dalga boyları (λ) olarak verilmekte olup dalga sayısı birimi (cm^{-1}) dalga boyundan (μm) daha çok tercih edilir. Bu tercihlerin nedenleri dalga sayısındaki artışın enerji (ve frekans) artışına karşılık gelmesi, dalga boyunun ise enerji ile ters orantılı olmasıdır. IR sinyalinin cm^{-1} 'deki pozisyonu genellikle (yanlış bir şekilde) frekans olarak adlandırılır. Frekansın kendisi genellikle kullanılmaz çünkü boyutu kullanışsızdır. Ayrıca X eksenin ölçeğinde $2000 cm^{-1}$ 'de bir değişikliği de göz önünde bulundurmalısınız ki daha yüksek değerlerde daha kompakttır.

Sinyalin yoğunluğu (Y ekseninde) % geçirgenlik terimleriyle verilir. Bu belirli bir dalga sayısının IR ışınımının ne kadar güçlü bir şekilde emildiğini belirtir. Geçirgenlik (T) örnek tarafından iletilen ışık gücünün (P) örneğe gelen ışık gücüne (P_0) olan oranıdır. Geçirgenlik 0 ila 100% aralığında olup 100% geçirgenlik hiçbir absorpsiyonun olmadığını 0% geçirgenlik ise gelen IR ışınımının tamamen emilmesini ifade eder. IR spektrumundaki sinyaller bantlar olarak adlandırılır. Daha büyük bir bant daha düşük bir geçirgenlik değerine karşılık gelir ve ışınımın daha fazla emildiğini gösterir. Genellikle IR bantları s , m ve w olarak işaretlenir ve bunlar sırasıyla güçlü, orta ve zayıf absorpsiyonları ifade eder.

4.11.SEM Quanta 450 FEG Cihazı

Geleneksel mikroskoplarda örnekler metalik boya ile kaplanır ve bu işlem demetin yüzeyindeki incident yük tarafından bir araya getirilir. Bu durum örneği inceleme sürecini zorlaştırır. Bu işlem örneklerin yüzeylerini iletken hale getirmek için uygulanır. Quanta 3D mikroskobu suyun iyonlaştırılmış parçacıklarını içeren buharın miktarıyla düşük vakum işlemi yapma özelliğine sahiptir. Örneklerin yüzeyleri elektron demeti tarafından taranabilir ve algılanabilir bölgelere dönüştürülür. Böylece içerisinde sıvı bulunan biyolojik örnekleri inceleme sürecini kolaylaştırır. Bu işleme 'işletim ortamı' denir.

Cihaz kristal yapıyı karakterize etmek yönlendirmeleri haritalamak ve kristal ve doku yapısını düz veya taneli olup olmadığına dair detayları vermek amacıyla örneğin nokta nokta difraksiyonunu ölçer. Quanta 3D mikroskopunun bir de iletim işletim modu (STEM modu) vardır. Örnek ince ise STEM dedektörü tarafından parlak ve karanlık alan görüntüleri toplanır. Bu modun (ideal koşullar altında) kazanabileceği en son çözünürlük 0.9 nm'dir.

İki demet mikroskobunun ikinci demeti, 30 kV'ye kadar olan bir güce sahip odaklanmış bir gallium iyon demetidir (FIB). Demet odak ve hızlanma bakımından bir elektron demeti gibidir. İyon demeti örneğin yüzeyini yok edebilir bu nedenle örnek yüzeyi etkili bir şekilde işlenebilir. İyon demeti varlığı, mikroskopun yeteneklerini iki katına çıkarır.

Quanta 3D FEG mikroskop cihazlarında alan emisyon tabancası (elektron kaynağı) de ısınır ki bu kaynağa Schottky kaynağı denir. Filament malzemeleri katot malzemesinin

performans fonksiyonunu azaltmak amacıyla zirkonyum oksit (ZrO_2) ile kaplanmış tungsten içerir. Katodun elektronları, tarama elektron mikroskoplarında en büyük elektron gücünün yaklaşık 30 kV olduğu bir elektrik alanı tarafından hızlandırılır ve daha düşük enerji aralıklarına ulaşabilir. Hızlandıktan sonra elektronlar manyetik değişken odak uzunluğu lensleri tarafından odaklanır ve akımı değiştirerek ışın noktası boyutu çeşitlendirilir.

En düşük ışın noktası çapı yaklaşık 1 nm'dir. Işın örneklerin yüzeyini (nokta nokta ve satır satır) taramıştır. Örnek yüzeyinin üzerinde bulunan detektörler tüm SE (tarama elektronları), BSE (geri saçılan elektronlar) ve X-ışını fotonlarını toplar. Normal SEM sadece SE detektörüne sahipken laboratuvarımızda kullandığımız SEM bu üç bölümü de içerir.

Örnek hazırlığı gerektirmeyen bir teknoloji olmasının yanı sıra bu cihazın bir diğer avantajı da yüksek vakum modu, düşük vakum modu ve ESEM modu olmak üzere üç görüntüleme moduna sahip olmasıdır. Ayrıca metal, iletken olmayanlar, cilalanmış kesitler veya hatta yumuşak malzemeler olsun çeşitli şekillerdeki örnekler incelenebilir. Driftleri telafi etmek için cihazda Mart Scantm kullanılarak gürültü minimuma indirilmiştir (DCFI). Daha iyi kontrast ve netlik için histeresis paketi seçeneği eklenmiş hassas tespit seçenekleri düşük-kV performansını artırmak için hassas bir DBS filtresi ve sütun içi detektör hassasiyeti sunmuştur. Şekil 4.22. Temel bilimler araştırma laboratuvarında bulunan Quanta 450 SEM'i göstermektedir.



Şekil 4.22. Temel bilimler araştırma laboratuvarında bulunan Quanta 450 taramalı elektron spektrometresi (SEM)

Temel Bilimler Araştırma Laboratuvarında kullandığımız Alan emisyonlu FEI Quanta FEG 450 yüksek çözünürlüklü taramalı elektron mikroskobu, numune hazırlamaya gerek kalmadan iletken numuneler, iletken olmayan ve ayrıca nanopartikül çözeltileri üzerinde doğal hallerinde SEM ve STEM görüntüleri elde etme imkanı sunmaktadır. 30kV’de ikincil elektronlarla minimum görüntüleme çözünürlüğü: Yüksek vakum çalışma modunda 1 nm veya daha iyi, düşük vakumlu çalışma modunda ise 5 nm veya daha iyi sonuçlar vermektedir. -20 C ile +60 C arasında hassas sıcaklık kontrolü sağlanabilmektedir. Açığı veya enerjik saçılma sinyalini vurgulamak için sahte renklerde bir görüntü elde etmek amacıyla 2 veya 3 bağımsız dedektörden elde edilen görüntülerden renk karışımı alınabilmektedir. Ayrıca tarama süresini azaltmak için farklı kaynaklardan (dedektörler veya aynı dedektörün bölümleri) 4 görüntünün tek bir taramadan eşzamanlı olarak görüntüsü alınabilmektedir. FEI Quanta FEG 450 SEM’de:

FEI Quanta FEG 450 SEM’de:

1. İkincil elektronların (SE) sinyal tespiti için Everhart-Thornley konvansiyonel dedektörü (SED), polarizasyona bağlı olarak SE ve BSE olmak üzere iki modda çalışabilmektedir.
2. Gazlı ortamda ise geniş görüş alanına sahip ikincil elektron dedektörü, Geniş Alan Dedektörü Dedektörü-Gazlı İkincil Elektronların (LF-GSED) vakumda, hem yüksek hem de düşük voltajda görüntülenmesi yapılabilmektedir.
3. Ultra düşük vakumda (ESEM) ve gazlı ortamda ise ikincil elektron görüntüleme için optimize edilmiş Gazlı İkincil Elektron Dedektörü (GSED)
4. Katı haldeki numunenin geri saçılmış elektronlarını 0° ila 90° arasında farklı açılarda tespit ederek incelenen alanın kompozisyonunu ve topografyasını görüntülemek için Yüksek Vakum ve Düşük Vakumda çalışmak üzere optimize edilmiş Yönlü Geri Saçılımlı Dedektörü (DBS)
5. Sütuna monte edilmiş ikincil elektron dedektörü (SE) ve Sütun İçi Dedektör (ICD), yüksek vakumdaki ışının yavaşlaması sırasında 1,0 nm çözünürlükte sinyali algılama olanağına sahip bir sintilasyon dedektörü
6. TEM (yani kesitsel ışın odaklı iyon) için hazırlanan düşük yoğunluklu numuneler için parlak alanda ve karanlık alanda yüksek çözünürlükte görüntüleme ve kritik boyutların ölçümü için yarı iletkenli STEM dedektörü
7. İnce veya kalın (toplu) numune analizine olanak tanıyan, tamamen hidratlanmış, incelenen numunelerin görüntülenmesi ve analiz edilmesi sırasında hem sıcaklığın hem de basıncın kontrolüne olanak tanıyan Dedektör WetSTEM ve Peltier sıcaklık kontrol cihazı / Aşama Isıtma Kontrol Kiti
8. Silicon Drift teknolojisine (SDD) sahip EDS dedektörü -EDAX Octane Plus
9. Numunenin güvenli bir şekilde görüntülenmesi ve konumlandırılması için IR-CCD kamera kullanılmaktadır.
10. Kolay, sezgisel navigasyon elde etmek amacıyla bir örneği küresel olarak görüntülemek için Nav-Cam 450 adı verilen CCD renkli optik kamera kullanılmaktadır.

4.12. Malvern Empyrean XRD'nin 3. Nesil Kullanım Kılavuzu

Malvern Empyrean'ın XRD 3. nesil cihazında, faz nicemleme işlemi normalleştirilmiş referans yoğunluk oranı (RIR) yaklaşımıyla gerçekleştirilir. Referans Yoğunluk Oranı (RIR), X-ışını toz difraksiyonunun standart içsel yöntemi ile niceliksel faz analizi için genel, enstrüman bağımsız bir sabittir. Ardından, numune tutucularına yerleştirilen tozun X-ışını sapmasının nicel analizi için yeni bir yöntem olan (RIR) yaklaşımı kullanılır.

Corundum referans standart olarak kullanılacaksa, RIR şu şekildedir: I/I_c ; Sabitler Jenkins (1987) tarafından bir toz difraksiyon profiline toplanır ve hesaplandıktan sonra ölçülebilir. RIR sabitlerinin hassas analizi için önerilen yöntemler sunulmuş ve yukarıdaki sabitlerin nicel analizde nasıl uygulanacağı tartışılmıştır. Copeland ve Bragg yöntemi ile tanıtilen karmaşık sabitlerin süperpozisyon hatlarını hesaplamak için temelde RIR sabitleri ve göreceli yoğunluklar açısından ifade edilebilir.

Bu formalizm aynı zamanda öge analizine dayalı kısıtlamaların ve tamamlayıcı denklemlerin bir genel bakışını sağlar (Hubbard ve Snyder, 1988).

Bu aralığın nicel analizinden elde edilen nicel sonuçlar genellikle RIRN değerleri için kriterlere dayanır, burada denklemler RIRN değerlerini nicel olarak analiz etmek için en küçük kare faktörlerine uygulanır. Matematiksel olarak kristal fazın içeriği aşağıdaki denklem doğrultusunda hesaplanır:

$$C_i\% = 100 \times \frac{(I_i/k_i)}{\sum_{i=1}^n I_i/k_i} \quad (4.11)$$

Burada C_i , i . fazın içeriği; I_i , i . fazın integral yoğunluğu; ve k_i , i . fazın corundum katsayısı (RIR) olarak ifade edilir. Test edilen fazlar için k_i oranları PDF veritabanında hafızalanmıştır. Elde edilen sonuçların istatistiksel işlemi, Tobias ve Croarkin'e (Uvarov vd., 2011) göre gerçekleştirildi. Şekil 4.23, Temel bilimler araştırma laboratuvarında bulunan 3. nesil malvern empyrean XRD cihazı.



Şekil 4.23. Temel bilimler araştırma laboratuvarında bulunan 3. nesil malvern empyrean XRD cihazı

4.13. Nicolet iS5 FT-IR Spectrometre

Nicolet iS5 FT-IR spektrometrenin (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, ABD) zayıflatılmış toplam yansıtma (ATR) birimi ile bir çinko selenid kristali ile temas halinde hiçbir örnek olmadan ölçüldü. Absorpsiyon ve temel sayım çıkarma işlemi alınan bu boş spektrumla yapıldı. Numune tutucu alkollü bir bezle temizlendikten sonra, spektrofotometrenin kristalinin düz yüzeyine yaklaşık 2 mg toz böbrek taşı bileşeni uygulandı ve Thermo Scientific OMNIC yazılımı ile (Thermo Electron Corporation, Madison, WI, ABD) 4000'den 400 cm^{-1} ölçümler alındı. Her spektrum için 4 cm^{-1} çözünürlükle 32 taramanın ortalaması alındı. Spektrum tanımlama için otomatik karşılaştırmalar yapıldı. Karşılaştırma sonucunda 0,000 ile 1,000 arasında değişen değerlerde skor değeri elde edilmiş olup, 1,000 puanı bilinmeyen spektrum ile referans spektrum arasında mükemmel bir benzerliğe işaret etmektedir. Sonuçları kontrol etmek için spektrumların görsel incelemesi de yapıldı. Kimyasal adı, mineral adı ve kimyasal formülün ayrıntılarını veren taş bileşenleri hakkında raporlar oluşturuldu. Kimyasal ad,

mineral adı ve kimyasal formülün ayrıntılarını veren taş bileşenleri hakkında raporlar oluşturuldu. Şekil 4.24. Temel bilimler araştırma laboratuvarında bulunan Nicolet iS5 FT-IR spektrometre cihazı.



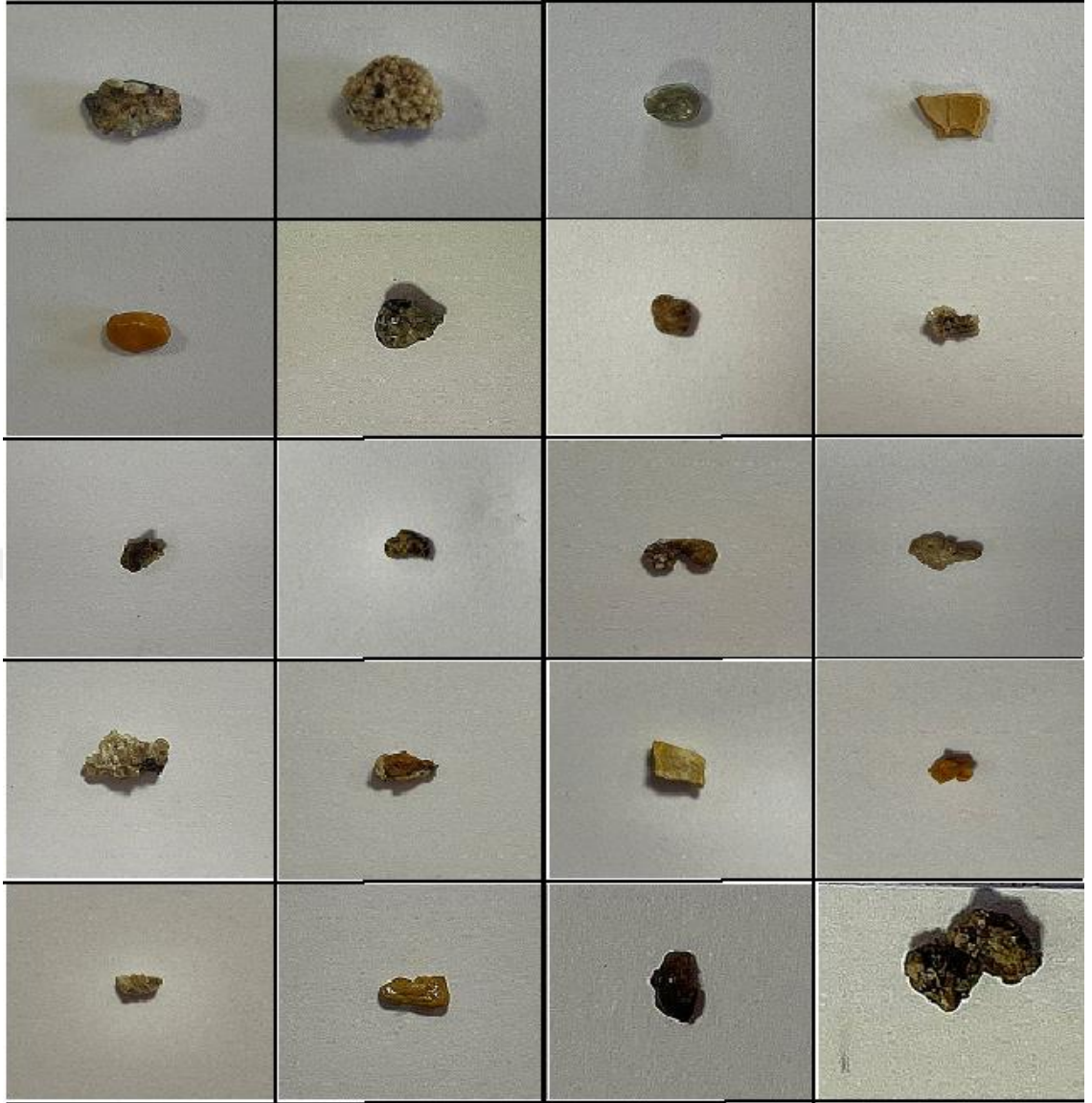
Şekil 4.24. Temel bilimler araştırma laboratuvarında bulunan Nicolet iS5 FT-IR spektrometre cihazı

4.14. Numune Toplama ve Hazırlama

Özenle hazırlanan numuneler böbrek taşı analizinde kritik bir rol oynar. Bu nedenle numunelerin titizlikle hazırlanmasıyla potansiyel hatalar en aza indirilmiştir. Aşağıda izlenen adımlar bu özenli numune hazırlama sürecini yansıtmaktadır.

1. İlk olarak steril kaplara alınan taşlar özenle deiyonize su ile temizlendi ve sonrasında steril gazlı bez üzerinde hava ile kurutuldu. Kuruyan numuneler daha sonra özel kuru şişelere aktarıldı.
2. Laboratuvar da tüm numunelerin tekrar durulanması için deiyonize su kullanıldı.
3. Numunelerdeki kalıntılar ve kalan kan pıhtılarını temizlemek amacıyla numuneler özel bir su banyosunda 15 dakika boyunca sonike edildi.
4. Toplanan tüm böbrek taşları nemin giderilmesi için 60 °C ile bir saat arasında etüvde özenle kurutuldu ve kuruyan taş örneklerinin fotoğrafları çekildi (Şekil 4.25.).

5. Çekirdeğe erişmek için büyük taşlar (>12 mm) steril bir testere kullanılarak dikkatlice Kesildi.
6. Alınan karot ve yüzey numuneleri ayrı ayrı FTIR ile titizlikle analiz edildi.
7. Taşlar daha sonra ince, homojen bir toz elde etmek için özel havan tokmağı ile özenle toz haline getirildi.
8. Toz haline getirilen taşlar akik havanda %0,5 ila 2 oranında inert bir toz destek (kurutulmuş potasyum bromür) ile özenle karıştırıldı.
9. Bu karışım, uygun bir kalıba dikkatlice aktarıldı ve 13 mm çapında şeffaf bir pelet oluşturmak üzere 10 t/cm²'de özenle preslendi.
10. KBr peletindeki numune konsantrasyonunu ve numune parçacıklarının Beers kalibrasyon eğrisindeki homojen olmayan dağılımının etkilerini en aza indirmek için, üç bağımsız pelet üretilip ölçüldü.
11. Spektrumlar uygun şekilde ağırlıklandırıldıktan ve taban çizgisi için düzeltilip düzenlendikten sonra ortalama değer özenle hesaplandı.



Şekil 4.25. Toplanan böbrek taşlarının fotoğrafları

4.15. Etik Beyanı

Elde edilen böbrek taşı örnekleri Erzincan Mengücek Gazi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji Bölümü'nde gerçekleştirilen açık cerrahi veya perkütan nefrolitotomi yöntemleriyle toplandı. Hasta bireylere örnek toplama prosedürleri detaylı bir şekilde aktarıldı. Gerekli etik onay Erzincan Binalı Yıldırım Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik İnceleme Kurulu'ndan (ERC) alındı. Çalışma sürecinde 1975 Helsinki Bildirgesi'nde belirtilen prensiplere (2013 yılındaki güncellemelerle birlikte) tam uyum sağlandı. Hasta gizliliğini korumak adına kimlik bilgileri silindi ve her taş benzersiz bir kod atandı.

5. ARAŞTIRMA ve BULGULAR

Böbrek taşı hastalığına mineralize kristallerin böbrek kaliksleri ve pelviste birikmesi neden olur ve bu birikintiler bir dizi olayla taşa dönüşür. Oluşan taşlar cerrahi işlemler veya tıbbi müdahalelerle tedavi edilir ancak tekrarlamanın önlenmesi, taş mineral türüne özel tıbbi tedavi için taş bileşiminin anlaşılmasını gerektirir. Kristal tutulması ve büyümesi, hyaluronik asit, osteopontin, renal tübüler epitel hücre yüzeylerinin bileşimi ve süperstarasyon gibi çeşitli faktörler tarafından yönetilir. Bununla birlikte bu faktörlerin ve diğer içsel fizyolojik ve metabolik faktörlerin etkileşimindeki farklılıklar, kristalleşme sürecini yönetebilir ve bileşimleri belirleyebilir. Taş matrisinin mikro yapısı taş türleri arasında farklılık gösterir ve mineral bileşimine göre belirlenir. Bileşim analizi, taş oluşumundan sorumlu mineral türlerini ortaya çıkarır ve böbrek taşı matrisinin ultra yapısal incelemesi, patogenezele ilgili önemli bağlantılar olan ek ayrıntılar sağlar. Özellikle kalsiyumoksalattan oluşan bazı taşlar plak'a yapışırken, diğerleri genellikle böbrek toplama sisteminde serbest çözelti halinde oluşur. Bu koşulların her biri altında çekirdeklenme ve toplanma süreci önemli ölçüde farklılık göstererek taşın farklı koşullar altında toplanmasına ve büyümesine olanak tanıyarak fiziksel ve kimyasal mimaride heterojenliğe yol açar. Taş oluşumunun ilerlemesi sırasında aşırı ve tekrarlanan çözünmeler de meydana gelebilir ve taş matriksini ultra yapısal düzeyde değiştirebilir. Hücre-kristal reaksiyonunun neden olduğu böbrek inflamatuvar hasarı, böbrek içi kalsiyum oksalat kristallerinin oluşumunda önemli bir rol oynar. Litogenez sürecindeki çeşitlilik, taşın içyapısını ve bileşimini önemli ölçüde etkileyebilir. Ayrıca, taş matrisindeki mineral dağılım modeli, türlerin mevcudiyeti ve/veya aşırı doygunluğu tarafından yönetilen kristal büyümesi sırasındaki mineral birikim süreci tarafından tanımlanır. Böbrek taşı bileşimini ve üst yapısını incelemek için çeşitli ileri teknikler kullanılır. Bir çalışmada, Randall plağının μ CT kullanılarak ayrıntılı karakterizasyonu, taş oluşumunun mekanizması hakkında ayrıntılar sağladı; özellikle apatitin plak içinde daha yoğun bir kısım olarak interstisyum içinde taş oluşumundaki rolü.

Hastalar arasında karışık taş çeşitliliğinin yüksek olması, çekirdeklenme sürecinin, diğer idrar kristallerinin bir araya toplanmasını destekleyebilecek ve taşın tutulmasını kolaylaştırabilecek rastgele olaylar olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle böbrek

taşlarındaki farklı mineral türlerinin göreceli dağılımının daha kesin ve doğru bir teknoloji kullanılarak anlaşılması önemlidir.

Ürolitiyazis önemli morbiditenin eşlik ettiği tekrarlayan bir durumdur. Genel popülasyonda böbrek taşlarının ortalama yaşam boyu prevalansı %20 kadar yüksek olabilir. Uygun ürolojik müdahale semptomatik taş ataklarını ele alırken, nüksetmeyi önlemek için ileri profilaktik önlemlerin alınması da son derece önemlidir. Bu, kapsamlı bir metabolik çalışma ve doğru bir kantitatif taş analizi gerektirir. Uygun bir inceleme, taş analizi ve uygun takip olmadan nüks oranları yılda %10-23 kadar yüksek olabilir ve 5 yıl içinde %50'ye ulaşabilir, bu da her bir taş mevcut/çıkarıldığında 2-3 iş günü kaybına yol açar. Çoğu klinisyen sıklıkla idrar taşlarının analizini ihmal etmektedir.

Hedefe yönelik tıbbi tedavi için ya da böbrek taşı hastalığının başarılı tedavisi için taşların çıkarıldıktan sonra doğru analiz yöntemleri ile değerlendirilmesinin gerekli olduğu konusunda artık giderek artan bir fikir birliği vardır. Doğru taş analizi ile birlikte kan ve idrar araştırmaları ile hastalığın olası nedenleri tanımlanabilir ve mantıksal tedavi stratejileri belirlenebilir. Taş analizi taş oluşumunda genel metabolik değerlendirmeye imkân verir. Kristal birikmesi sırasında idrar ortamının "biyokimyasal biyopsisi" olarak görülebilir ve böylece kristal oluşumuna yol açan risk faktörlerinin ve/veya spesifik hastalıkların tanımlanmasına olanak tanıyabilir. Dolayısıyla sistin gibi bir taş bileşeninin bulunması spesifik bir tanıya işaret edecektir. Kalsiyum oksalat ve kalsiyum fosfatın bulunması, kalsiyumun (birincil hiperparatiroidizm, hiperkalsiüri, renal tübüler asidoz) veya oksalatın (birincil hiperoksalüri, gastrointestinal bozukluklar) işlenmesi ve metabolizmasında bir takım bozuklukların olasılığını bildirecektir. Kalsiyum oksalat içeren taşlar başka bileşenlerle birlikte veya başka bileşenler olmadan, Avrupa toplumlarında taş hastalarında en yaygın görülen taş tipini temsil etmektedir. Bu tür taşların patogeneziyle sıklıkla ilişkilendirilen çok faktörlü doğa, hangi tedavinin temel alınacağına dair spesifik bilgi vermek için daha fazla araştırma yapılmasını gerektirir.

Üriner taşların kimyasal bileşiminin araştırılmasının etiyoloji/yönetim ve nükslerin önlenmesi açısından önemli olduğu iyi bilinmesine rağmen, bunun için uygun yöntem henüz tanımlanmamıştır. Taş hastalığının patogenezi potansiyel olarak uygun analitik teknik kullanılarak okunmalıdır. Taramalı elektron mikroskobu ve buna bağlı enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (SEM-EDS) böbrek taşlarının morfolojisinin ve bileşim

yapısının ayrıntılı bir tanımını ve bir dereceye kadar oluşum nedenini ortaya koyan oldukça uygun bir analitik tekniktir. Bu tez çalışmasının ilk aşamasında, SEM-EDS tekniğini kullanarak böbrek taşlarının morfolojik ve kimyasal bileşim analizine ilişkin ayrıntılı spektroskopik araştırmalar sunduk. SEM-EDS'nin nefrolojide ileri düzey kullanımı diğer analitik teknikler açısından nispeten yenidir. SEM'e ek olarak taş numunelerini analiz etmek için ED-XRF'nin kullanımını da vurguladık. Bu çalışma insan vücudundaki taşların oluşumunu ve büyümesinin anlaşılması, teşhisi, tedavi stratejileri ve uygun tedavi yönetimi açısından oldukça faydalı olacağı kanaatindeyiz.

5.1. Taramalı Elektron Mikrokobu-Enerji Dağılımlı X-ışını Spektroskopisi (SEM-EDS)

Elektron mikroskobu (EM) elektron ışınlarının numunelerin görüntüsünü oluşturmak için kullanıldığı özel bir bilim dalıdır. Elektron mikroskobunun ışık mikroskobundan üstün olup ışık mikroskoplarında görünür ışık kaynak olarak kullanılır. Üretilen görüntüler optik merceklerle büyütülür. Yaklaşık 1000x büyütülmüş görüntüler üretebilirler ve numunenin görüntülerini büyütme için elektromanyetik mercekler kullanılır. Yaklaşık 100.000X büyütme ile yüksek çözünürlüklü görüntüler üretebilir ve çok daha küçük nesneleri atomik, moleküler ve hücre altı seviyelerde araştırmamıza olanak tanır. Günümüzde elektron mikroskobu farklı türdeki malzemelerden yapılmış yüzeylerin yüksek oranda büyütülmüş üç boyutlu (3D) görüntülerini yakalayabildiği için oldukça popülerdir. Başlangıçta elektron ışınlarının farklı koşullar altında optik davranışını incelemek için kullanılmış olup herhangi bir biyolojik uygulama öngörülüyordu. Buna rağmen elektron mikroskobunun artan büyütme özelliğinin bitkilerin, hayvanların ve biyolojik numunelerin yapısal ve bileşimsel incelenmesi gibi çeşitli alanlarda kullanılabileceği kısa sürede keşfedildi.

SEM güçlü bir tekniktir ve biyomalzemeler de dahil olmak üzere çok çeşitli malzemelerin yapısal ve morfolojik incelemelerini yapma yeteneğine sahiptir. Eşsiz geniş alan derinliği özelliğinden dolayı odaktaki örneğin büyük bir bölümünü aynı anda analiz eder. Ayrıca numuneyi nispeten geniş bir büyütme aralığıyla analiz edebilir ki bu araştırmacının başlangıçta daha düşük bir büyütmede taranan bir numune üzerindeki ilgi alanına hızlı bir şekilde konsantre olmasını sağlar. SEM-EDS ürolitin morfolojik, kimyasal ve kristal

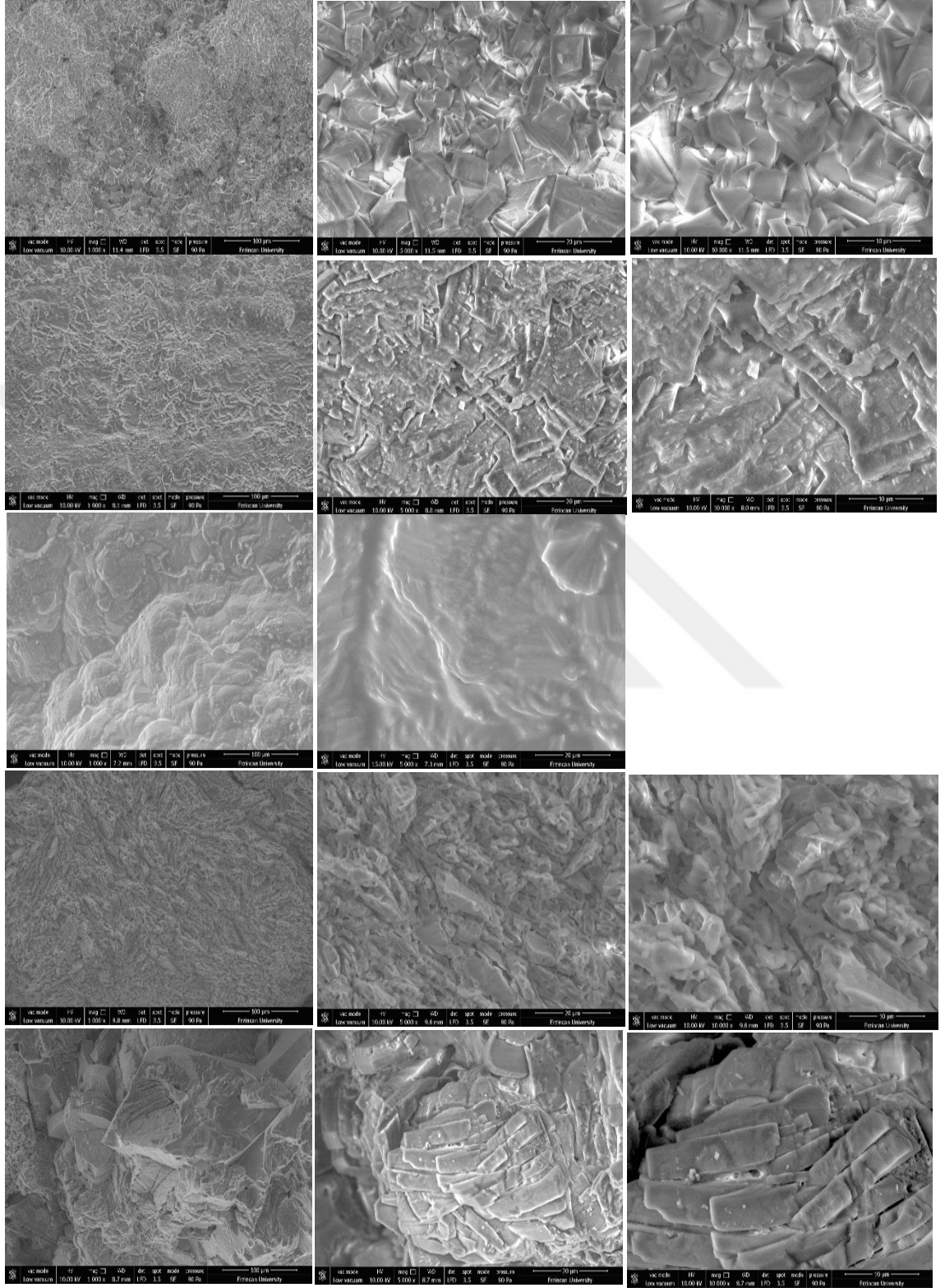
mimarisini oluşturmak için öncelikle elementlerin katman katman radyal dağılımını elde etmek için oldukça uygun analitik araçtır ki bu, kimyasal ortamın ürolit büyümesi üzerindeki etkisinin değerlendirilmesine yardımcı olabilir. Günümüzde SEM cihazlarının büyük çoğunluğu atom numarası dörtten büyük olan tüm elementleri tespit etme kapasitesine sahip enerji ayırmalı sistemle (EDS) birlikte değerlendirilmektedir. SEM-EDS numunelerde bulunan elementleri hızlı bir şekilde tespit eder ve aynı anda numunelerde bulunan elementlerin niteliksel ve niceliksel ölçümünü sağlar. Numunenin bileşimi, boyutu, dokusu ve şekli hakkında bilgi, yüksek enerjili elektronların numune yüzeyi ile etkileşimi ile üretilen saçılma modellerinden elde edilebilir. Numunenin topografik, morfolojik ve bileşimsel bilgilerini elde etmek amacıyla geri saçılan ve ikincil elektronları tespit etmek için farklı türde dedektörler kullanılır. SEM analizlerinden siyah beyaz 3 boyutlu yüksek çözünürlüklü görüntüler elde edilir ve bunlar daha sonra hedef numunelerin morfolojik, bileşimsel, yüzey topografyası ve kristalografik özelliklerini analiz etmek için kullanılır. SEM kullanılarak heterojen organik ve inorganik malzemeler nano ölçekten (nm) mikrometreye (μm) kadar analiz edilebilir ve karakterize edilebilir. X-ışını spektrumları elektron ışınına maruz kalan bir numune alanında hangi elementlerin mevcut olduğunu belirleyerek niteliksel analiz yapmamızı sağlar. Üç tür analiz vardır: elektron ışınıyla ışınlanmış bir noktadan bir spektrum üreten **nokta analizi**, seçilen bir çizgi boyunca ilgili elemanların tek boyutlu dağılımlarını gösteren **çizgi analizi**, seçilen bir bölge içindeki ilgili elemanların iki boyutlu dağılımlarını gösteren **haritalama**. Haritalamaya genellikle 'alan analizi' denir.

Bu çalışmada kullanılan böbrek taşı örneklerinin şekli küreselden düzensize ve boyutu noktasal ($\sim 0,2\text{ cm}$) ile büyüğe ($1,65\text{ cm}$) kadar değişmektedir. Taşların temsili görüntüleri Şekil 4.25.'de gösterilmektedir. Kalsiyum oksalat taşları esas olarak siyah/koyu kahverengi, açık sarı/beyaz renkte ve opaklı. Bu taşların bir kısmı farklı morfolojiye sahip mercan yapıları olarak ortaya çıktı. Ürik asit içeren taşlar çoğunlukla açık sarı, sarı ila kırmızımsı kahverengi veya kırmızımsı sarı renkteydi ve radyolüsentti. Struvit taşlarının rengi kirli beyaz/sütlü beyazdan açık kahverengiye kadar değişen opak yapıya sahipti. Bu taşlar çoğunlukla büyük dallı yapılardan (geyik boynuzları) oluşuyordu. Kalsiyum fosfat (apatit) taşları da opak olup kirli beyaz/süt beyazı ve açık/koyu kahverengi renkteydi. Karışık taşlar çeşitli boyut ve görünümlerdeydi. Bazı taş agregatları gözenekli bir içyapı gösterirken diğerleri eşmerkezli katmanlara ve/veya daha koyu bir çekirdeğe sahip yapılar

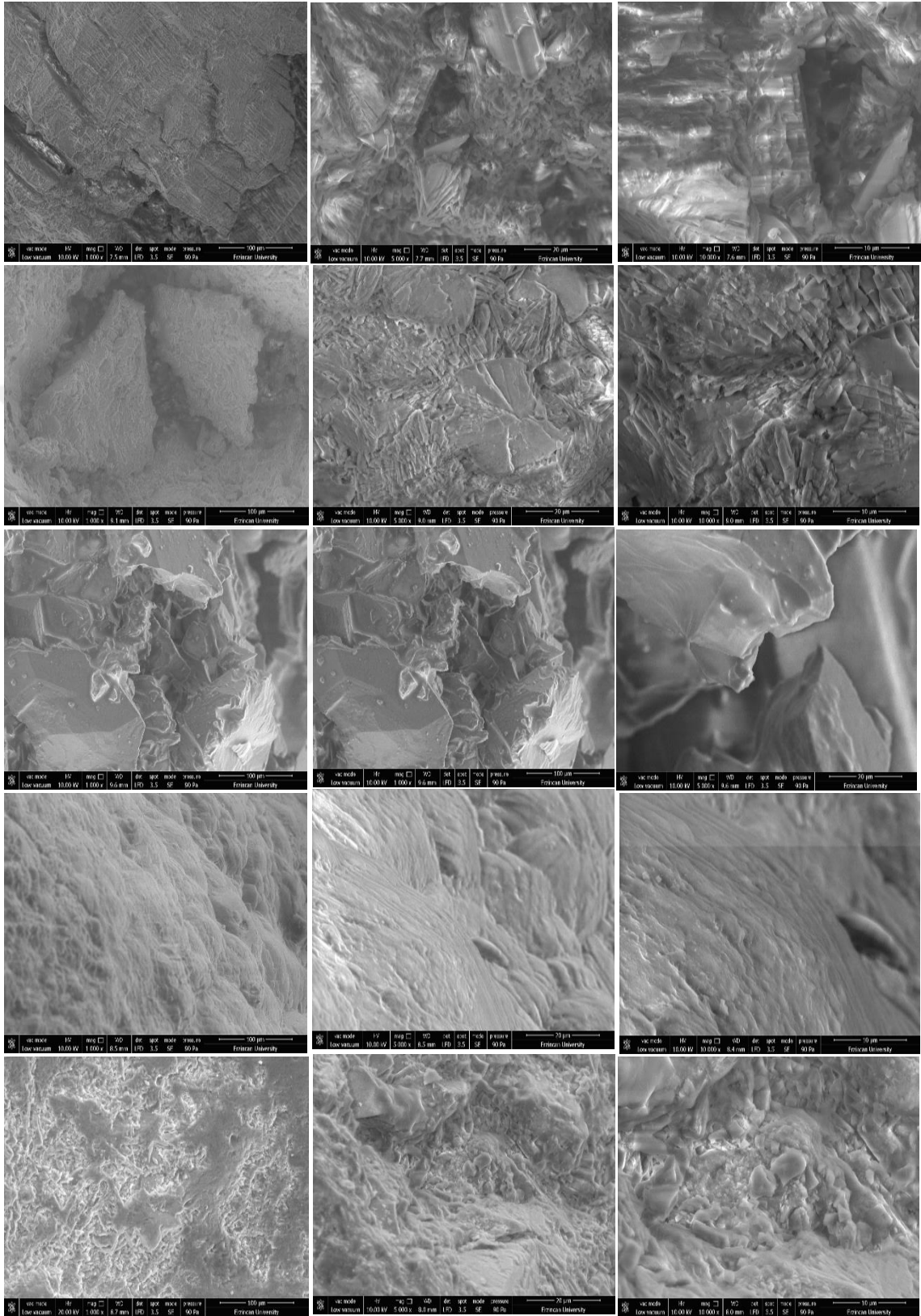
sundu. Analiz edilecek numunenin şekli gerekli olan bilgilere göre belirlenir. Topolojinin (kristallerin veya agregatların şekli) ve niteliksel kimyasal analizin gözlemlenmesi için özel bir yüzey hazırlığı gerekli değildir. Bu çalışmada kullanılan orijinal çapı 1,0 cm'ye kadar olan böbrek taşı örnekleri daha küçük parçalara (3-7 mm) kırılarak taşın hem dış yüzeyi hem de içi görülebilmektedir. İy yapısı, faz dağılımı ve ilişkilerin incelenmesi ve kimyasal bileşimin daha kesin tahminleri için BSE ve EDS kullanılmıştır. Montajlar taş parçasının epoksi reçineye (genellikle 2,5 cm çapında silindirik şeklinde) monte edilmesiyle hazırlanmıştır. Numunenin elektro-iletken malzeme ile kaplanmasını gerektirmeyen düşük vakum (10-100 Pa) veya çevresel (3000 Pa'ya kadar) koşullar altında SE'in kullanılmasıyla numune kaplama sorunları önlenir. Bunun nedeni bölgede bulunan gazın elektron ışınıyla etkileşimi sırasında iyonize olması ve ardından numune yüzeyine yakın pozitif yüklü parçacıkların yükü kısmen nötralize edebilmesidir. Bu nedenle tüm çalışma boyunca düşük vakum koşulları tercih edildi.

Görüntüler 1000 ile 20000 arasında değişen büyütme oranlarıyla (görüntü boyutu 6144 4096 piksel ve çözünürlük 96 dpi) elde edildi. Şekil 5.1.'de sunulan tüm görüntüler belirtilen uzunlukta bir ölçek çubuğu içermektedir. Tüm kantitatif analizler K serisinin X-ışını emisyon çizgilerine dayanarak elde edildi. Bu çalışma için whewellit, weddelit, bruşit, struvit, apatit, ürik asit ve sistin bileşenleri içeren en yaygın idrar taşı türlerini kapsayacak şekilde 30 örnek seçilmiştir. Numuneler hem numunede bulunan kristallerin ve agregatların karakteristik şekillerini gözlemlemek amacıyla parçalar halinde incelenmiştir.

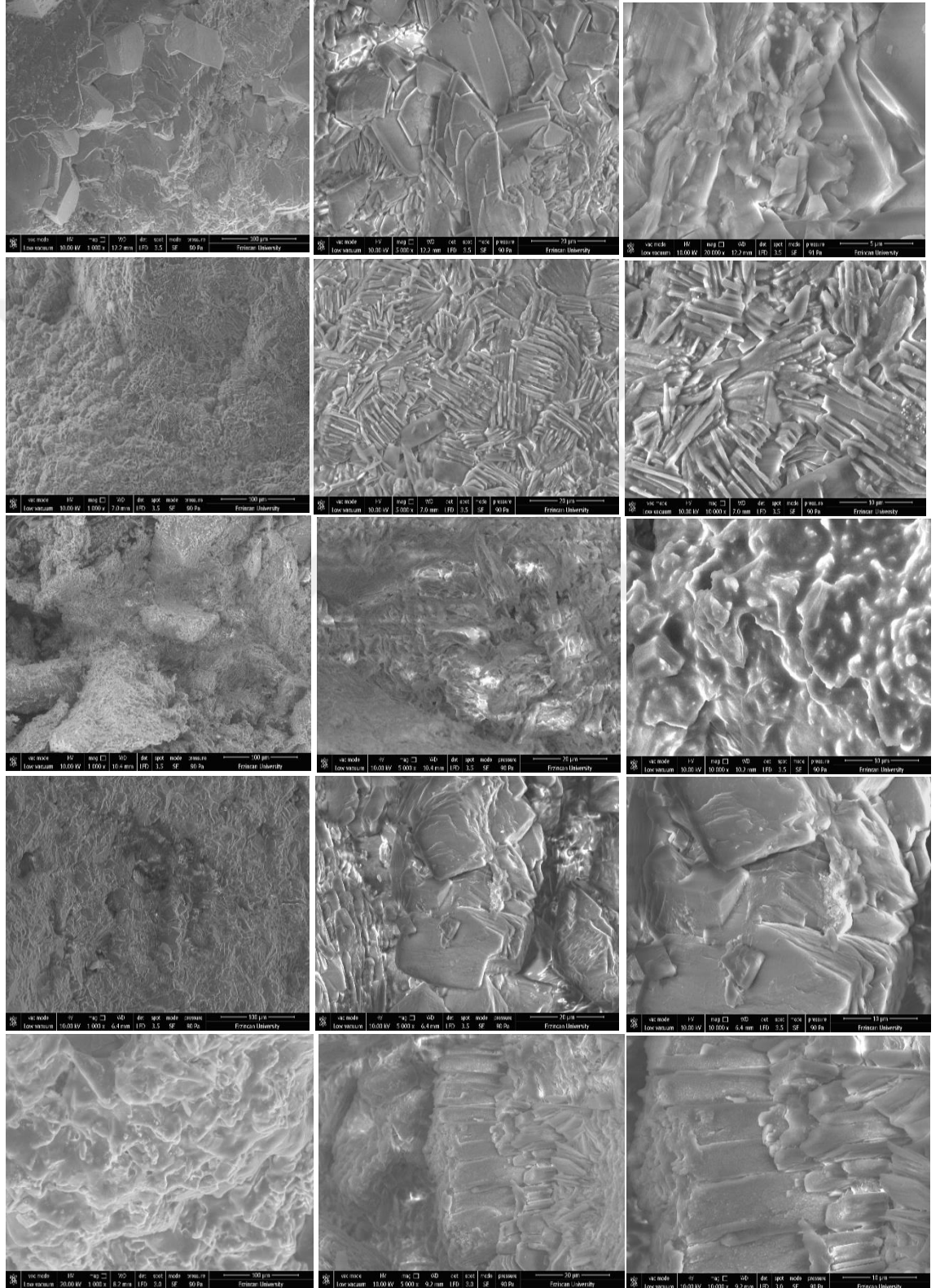
Şekil 5.1'in (devamı) SEM cihazından alınan bazı örneklerin farklı büyütmelerde görüntüsü



Şekil 5.1'in (devamı) SEM cihazından alınan bazı örneklerin farklı büyütmelerde görüntüsü



Şekil 5.1'in (devamı) SEM cihazından alınan bazı örneklerin farklı büyütmelerde görüntüsü

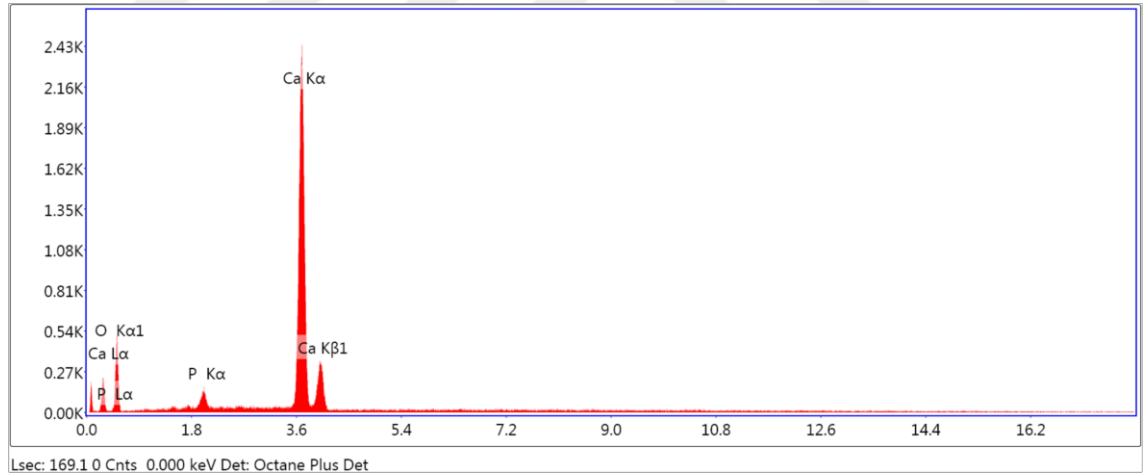


Böbrek taşı bileşenlerinin büyük çoğunluğu farklı kristal yapılara sahip kristal fazlarla temsil edilir. Bu belirli bir faz için karakteristik şekillere sahip kristaller oluşturabilmelerine yol açar. Bu çalışmada incelenen idrar taşı parçalarının çoğunu iyi tanımlanmış kristaller veya karakteristik agregatlar oluşturduğundan, fazların çoğu karakteristik görünümüleriyle kolayca tanımlanabildi. En tipik gözlemler Şekil 5.1.'de gösterilmektedir.

Böbrek taşlarının en yaygın bileşenleri Ca-oksalatın farklı formları olan dihidrat (weddellite, $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ve monohidrattır (whewellite, $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$). Weddellitin kristal sistemi tetragonal-dipiramidaldır ve çoğunlukla karakteristik tetragonal bipiramitleri oluşturur. Whewellite monoklinik-prizmatik kristal sisteminde kristalleşir. En yaygın görünümü tipik olarak yelpaze benzeri ve dambıl/kum saati şeklindeki)) agregatları oluşturan kristallerdir. Whewellit taşlarının düzensiz iç yapısı ve tabular kristallerde dahil karakteristik kristal şekillerinin varlığı gibi bazı spesifik özellikleri 1 gösterildiğinden, whewellit böbrek taşlarının morfolojisi ve iç yapısının gözlemlenmesi özellikle ilgi çekici olabilir. Yün topu şeklindeki kristal agregalarda ayrıca ilgi çekicidir. Üriner taş bileşenlerinin bir başka yaygın grubu da bruşit, apatit ve struvit dahil olmak üzere fosfatlardır. Bruşit ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) monoklinik prizmatik yapıda kristalleşir ve sistemli radyal olarak düzenlenmiş uzun prizmatik kristallerden oluşan tipik taşlar veya agregatlar oluşturur. Apatitin kristal sistemi ($\text{Pa}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH}, \text{F}, \text{Cl})$) altıgen-dipiramidaldır. Bununla birlikte iyi tanımlanmış kristaller halindeki görünümü çok nadirdir ve çoğunlukla çapı 50 mm'ye kadar olan karakteristik küresel nesnelerde çoğunlukla diğer materyallerden (örn. Ca-oksalatlar –struvit –veya sistin) oluşur. Struvit ($(\text{NH}_4)\text{MgPO}_4 \cdot 6(\text{H}_2\text{O})$) ortombik-piramidal kristal sisteminde kristalleşir ve karakteristik tabut kapağı şekline sahip piramidal ve sıklıkla uzun kristallerden oluşturur. Yüzeyinde üç köşeli yıldız şeklinde görünen çatlakların varlığı nedeniyle görünümü de oldukça karakteristiktir. Bunlar muhtemelen struvit taşının havadaki bozunması (su kaybı) sırasında ortaya çıkmaktadır Ürik asit ($\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$) monoklinik-prizmatik kristal sisteminde kristalleşerek eşkenar dörtgen görünümlü kristaller veya bazı durumlarda altıgen şekilli kristaller oluşturur. Sistin ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2$) kristal yapısı altıgendir ve c eksenine dik olarak gelişmiş mükemmel bölünmeye sahip, iyi tanımlanmış altıgen prizmatik kristaller olarak görünür. Bu bölünme kristal yapının ince tabakalarının bölünme düzlemleri boyunca belirgin bir şekilde ayrılmasına yol açar ve çizgili kristal

yüzeyi de dahil olmak üzere kristallere çok karakteristik bir görünüm kazandırır. Bu nedenle sistin kristalinin görünümü genellikle benzersizdir ve diğer böbrek taşı bileşenleriyle karıştırılması zordur. Morfoloji gözlemi sırasında incelenebilecek diğer özellikler mevcut aşamaların ilişkileri veya ilacın böbrek taşı karakteri üzerindeki yapısının değişmesi veya yüzeyinin aşınması gibi etkisidir. Benzer bir özellik bir weddellit-apatit taşı durumunda da gözlenmiştir. Burada apatit sağlam kalmış gibi görünürken böbrek taşı yüzeyinde belirgin seçici weddellit korozyonu gözlenebilmektedir. Bu durumda yüzey korozyonu ilaçla bağlantılı olmasa da ortamdaki (pH) önemli değişikliği yansıtır olabilir.

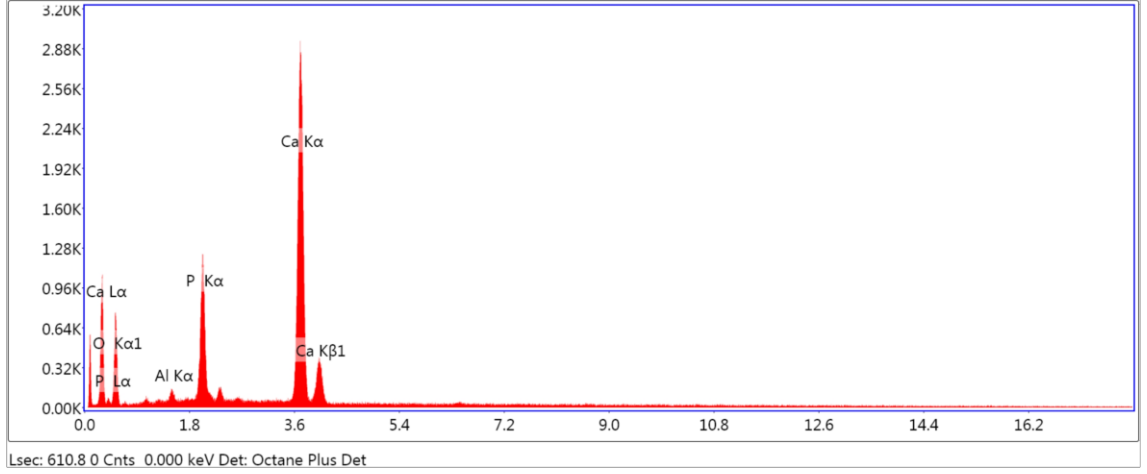
Numunelerin elektronla ışınlanması sırasında yayılan x-ışınlarının enerji ayırmalı spektrumları, tüm ana idrar taşı bileşenleri için elde edildi (Şekil 5.2.a-d). Spektrumun düşük enerjili kısmında görünen hafif elementlerin tam konsantrasyonlarını tahmin etmek her spektrum genellikle böbrek taşı spektrumların spesifik bir göstergesidir ve bu nedenle kesin olarak tanımlanmasına yol açabilir.



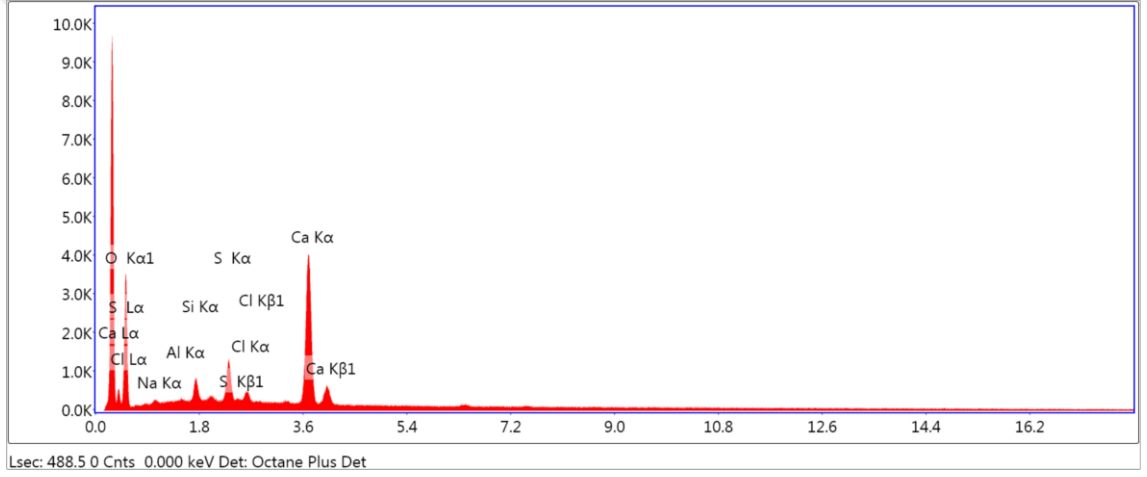
(a)

Şekil 5.2.a,b,c,d. Bazı böbrek taşlarının EDAX görüntüleri

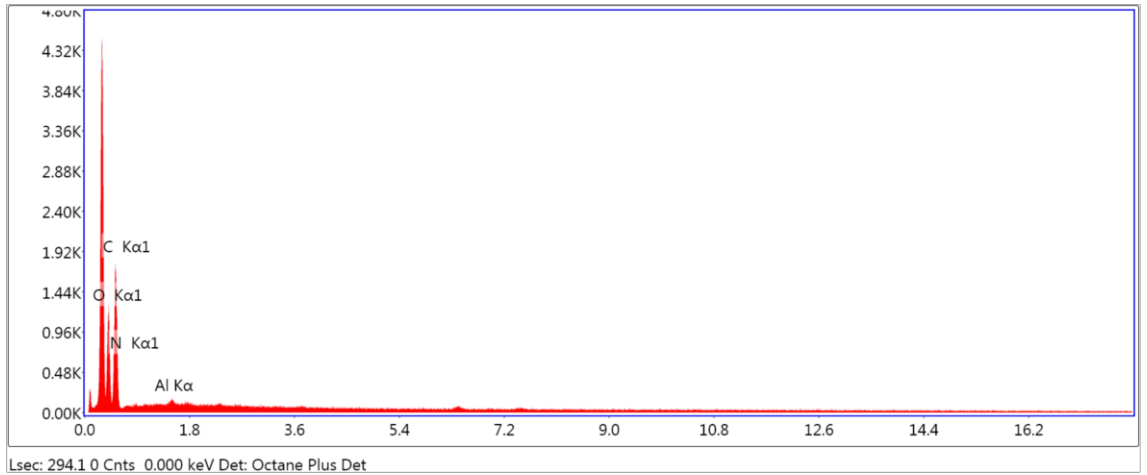
Şekil 5.2.'nin (devamı) a,b,c,d. Bazı böbrek taşlarının EDAX görüntüleri



(b)



(c)



(d)

Şekil 5.2'deki temsili spektrumlar 200 saniyelik canlı süre boyunca 15 kV hızlanma voltajı ve 1,5 nA prob akımı altında elde edildi. Hem P hem de C'nin varlığı apatit veya bruşitin göstergesi olabilir. Bununla birlikte, bu fazların her biri kendine özgü Ca:P atom oranlarına (apatitte 5:3 ve bruşitte 1:1) sahip olduğundan, tepe yoğunluk oranının değerlendirilmesi (veya daha sonra ED spektrumunun ölçülmesi) bunların ayırt edilmesine olanak tanır ayrıca analiz edilen numunelerin tümünde apatit, bruşitte bulunmayan (veya tespit sınırının altında) tespit edilebilir miktarlarda Na, Mg ve Si içerebilir. Bir Ca zirvesi (P olmadan) ile karakterize edilen spektrum, Ca-oksalatı gösterir ancak weddellite ve whewellite arasında yalnızca ED spektrumuna dayanarak ayırım yapmak pek mümkün değildir. Mg ve P zirvelerinin hakim olduğu bir spektrum struvite karşılık gelir. Yalnızca C, N ve O zirvelerini içeren bir spektrum ürik asit veya ürati gösterir ve S zirvesinin hakim olduğu bir spektrum ise sistine karşılık gelir.

Farklı taşların enerji ayırmalı spektrometre (EDS) kullanılarak belirlenen elemental dağılımda çeşitlilik gözlemlendi. Whewellite, Weddellite ve struvit taşlarında bol miktarda Al ve Si elementlerine rastlandı. COM taşlarının ana element bileşimi O, C ve Ca'dır. Az miktarda Na, Cl, Al, Mg, Sİ ve S'de mevcuttu. Whewellite taşlarında Al konsantrasyonu Na ve Cl'den daha yüksekti ve bu elementler numuneler arasında küçük miktarlarda dağılmıştı. Ürik asit taşlarında çok sayıda eser elementin az miktarlarda dağılımını gösterdi. Struvitte ana elementlerin, yani O, Mn, N ve P'nin dağılımı, taş matrisi boyunca belirli bir desen olmaksızın dağılmıştır.

Farklı taşların enerji dağılımlı spektroskopisi (EDS) kullanılarak belirlenen element bileşimi dağılımının çeşitlilik gözlemlendi. Al ve Fe, COM, COD ve struvit taşlarında bol miktarda bulundu. Ürik asit taşları çok sayıda eser elementin az miktarda dağılımını içeriyordu.

Tablo 5.1. Farklı taşların enerji dağılımlı spektrometre (EDS) kullanılarak belirlenen elemental dağılımı

Numune	Element	Ağırlık Yüzdesi (%)	Atom Yüzdesi (%)	Net Yoğunluk	Hata Yüzdesi (%)
Ks.1	O K	43.85	65.9	33.48	11.3
	P K	1.53	1.19	11.71	1.16
	CaK	54.6	32.85	303.59	1.68
Ks.2	O K	56.65	75.33	13.63	10.65
	AlK	0.62	0.49	1.26	23.32
	P K	9.6	6.6	29.18	4.89
	CaK	33.12	17.58	101.49	1.67
Ks.3	O K	69.76	82.81	84.37	9.2
	NaK	5.38	4.44	10.03	11.74
	AlK	0.32	0.23	1.87	36.76
	SiK	2.06	2.06	17.43	9.67
	S K	3.48	2.06	37.7	5.93
	ClK	0.98	0.52	10.48	9.51
	CaK	18.01	8.54	174.17	1.64
Ks.4	N K	31.43	35.42	56.38	8.74
	O K	63.16	62.32	102.45	10.07
	SiK	0.81	0.45	13.71	13.72
	CaK	4.61	1.81	87.41	3.1
Ks.5	O K	59.15	77.54	64.61	10.73
	NaK	0.98	0.9	2.56	34.59
	AlK	0	0	0	99.99
	P K	4.63	3.13	63.24	8.14
	CaK	35.24	18.44	504.1	1.42
Ks.10	O K	65.67	82.37	200.77	10.4
	NaK	0.82	0.72	5.23	32.87
	P K	0.89	0.58	0.58	14.46
	CaK	32.62	16.33	1204.61	1.33
Ks.12	N K	30.46	34.02	155.64	6.57
	O K	63.71	62.31	230.72	9.78
	NaK	3.8	2.58	25.69	12.79
	AlK	1.22	0.71	26.73	13.31
	SiK	0.37	0.21	11.5	26.01
	CaK	0.44	0.17	16.02	20.29
Ks.13	C K	11.3	16.5	5.96	99.99
	O K	67.74	74.3	39.48	9.81
	P K	0.1	0.05	0.55	66.15
	ClK	0.16	0.08	1.18	53.55
	CaK	20.71	9.07	125.69	1.57
Ks.14	O K	62.85	78.44	200.96	9.75

Tablo 5.1.'in (devamı) Farklı taşların enerji dağılımlı spektrometre (EDS) kullanılarak belirlenen elemental dağılımı

	SiK	14.35	10.2	432.69	5.44
	CaK	22.8	11.36	701.02	1.72
Ks.15	O K	68.26	83.75	182.1	10.29
	NaK	1.82	1.56	9.28	20.63
	SiK	0.17	0.12	4.26	64.31
	CaK	29.75	14.57	14.57	1.44
	O K	57.49	75.56	18.64	10.27
Ks.17	NaK	1.52	1.39	1.17	18.28
	MgK	0.31	0.27	0.51	41.69
	P K	9.31	6.32	36.21	4.76
	CaK	31.37	6.46	123.96	1.52
	O K	65.15	81.76	61.24	10.82
Ks.18	AlK	2.37	1.76	15.98	13.83
	SiK	0.81	0.58	7.6	22.89
	S K	0.24	0.15	2.98	60.96
	CaK	31.43	15.74	347.36	1.55
Ks.22	C K	25.33	29.46	127.7	5.45
	N K	43.2	43.09	80.7	9.53
	O K	31.38	31.38	74.43	10.43
	AlK	0.08	0.04	2.8	25.44
Ks.24	O K	68.08	83.96	83.96	10.45
	NaK	0.47	0.41	0.41	75.12
	S K	1.08	0.67	9.28	12.32
	ClK	0.37	0.2	3.23	3.23
	CaK	29.99	14.77	222.22	1.55
Ks.30	O K	73.15	86.2	339.43	9.42
	NaK	2.79	2.29	20.26	14.11
	SiK	0.64	0.43	22.63	14.77
	P K	0.48	0.29	18.12	18.5
	CaK	22.94	10.79	956.15	1.31
Ks.31	O K	72.71	86.37	358.97	9.42
	SiK	3.38	2.29	138.1	6.73
	CaK	23.91	11.34	1107.41	1.14

COM taşlarının ana element bileşimi O, C ve Ca'dır. Az miktarda Na, Cl, Al, Mg, Si ve S da mevcuttu. Ca eşmerkezli halkalar halinde numune boyunca dağılmıştır. Ancak taşın çevresinde nadiren görüldü. Eşmerkezli halkalarda C düzeyi düşüktü ve taşların olduğu bazı yerlerde ise birikmişti. Aksine O₂'nin dağılımı çok büyüktü ve matrisin yaklaşık %60'ını oluşturuyordu ve dağılım oldukça düzenli bir halka desenini gösteriyor. COM

taşlarında Al konsantrasyonu Na ve Cl'den daha yüksekti ve bu elementler numuneler arasında küçük miktarlarda dağılmıştı.

Ürik asit taşındaki ana elementler daha az miktarda Fe, Cu, K, Mn, P ve Na idi. Struvitte ana elementlerin, yani O, Mn, N ve P'nin dağılımı, taş matris boyunca belirli bir desen olmaksızın dağılmıştır.

SEM-EDS idrar taşlarının incelenmesi ve teşhis amaçlı bileşimlerinin belirlenmesi için güçlü bir araçtır. Diğer yöntemlere göre avantajı materyaller hakkında geniş yelpazede bilgi edinmenin mümkün olmasıdır. Çok yüksek çözünürlükte görüntüleme, kristallerin veya agregatların şekilleri hakkında tek başına kesin olarak gösterge niteliğinde olabilecek bilgiler sağlar. Ayrıca SEM'in yüksek görüntü büyütmesi çok küçük nesnelerin tanımlanmasına olanak tanır ve küçük miktarlarda bulunan, teşhis açısından önemli olabilecek ancak diğer yöntemlerle gözden kaçabilecek bileşenlerin varlığının ortaya çıkarılmasına yardımcı olabilir. Bu özellikle tanımlanması doğrudan sistinüri tanısıyla bağlantılı olan sistin durumu için geçerli olabilir. Sistinin kimyasal özellikleriyle bağlantılı tipik görünümü, onu en kolay tanımlanabilen böbrek taşı oluşturma aşamalarından biri haline getirir. Daha önce yapılan çalışmalarda da gösterildiği gibi evrelerin basit bir şekilde tanımlanması tanı açısından yeterli bilgi olmayabilir. Daha da önemlisi SEM ayrıca bazı ek bilgiler de sağlar aynı faz tarafından oluşturulan kristallerin morfolojisindeki değişkenlik, belirli hastalıkların göstergesi olabilir; bakteri izlerinin gözlemlenmesi, taş oluşumuyla bağlantılı enfeksiyonun belirlenmesine yardımcı olabilir ki çok fazlı taşlarda mevcut aşamaların karşılıklı ilişkileri, taşın kristalleşme geçmişini ve mekanizmasını tanımlamaya olanak tanıyabilir. Bunlar kesin teşhis için önemli veriler olabilir ve başka hiçbir yöntemle ulaşılamaz. SEM EDS ile birleştirilirse, bir elektronla ışınlama sırasında numunelerden yayılan x-ışını spektrumlarının analizi, gözlemiyle eş zamanlı olarak mevcut fazların kimyasal bileşimi hakkında bilgi sağlar. Elde edilen spektrumların niteliksel ve niceliksel değerlendirmesi, böbrek taşı bileşiklerinin daha kesin bir şekilde tanımlanmasını sağlar ve aslında morfolojiye ilişkin bilgilerin elementel bileşimle ilişkilendirilmesi, böbrek taşı bileşenlerinin çoğunun tanımlanması için yeterli bilgi sağlar. Kimyasal bileşime ilişkin bilgiler 3 mm'den küçük alanlardan elde edilebilir ve çoğu element için tespit sınırları ağırlıkça %0,1'in altındadır. Bu bazı önemli küçük elementlerin tanımlanmasına olanak tanır ve taş içindeki kimyasal çeşitliliği ortaya

çıkarabilir bu da taş büyümesi sırasında çevredeki değişikliklerin anlaşılmasına yardımcı olabilir. Eşdeğer tespit limitleri ve uzaysal çözünürlük ile kimyasal bileşime ilişkin bilgi başka bir yöntemle elde edilemez. EDS ile bileşimsel haritalama yalnızca taşlardaki çeşitli fazların dağılımını göstermekle kalmaz aynı zamanda örnek kesit boyunca küçük element içeriğindeki zonlanma karakterini de gösterebilir. Yalnızca SEM-EDS yöntemi kullanıldığında ortaya çıkabilecek temel belirsizlik, yalnızca açıkta kalan yüzeyin gözlemlenip analiz edilmesi ve bu nedenle taşın tüm hacminin çalışılmaması, bazı küçük bileşenlerin veya özelliklerin gözden kaçmasına neden olabilir. Bu taşın parçalanmasıyla kısmen en aza indirilebilir. Sonuç olarak SEM-EDS'nin böbrek taşlarının araştırılmasında tamamlayıcı bir yöntem olmaktan ziyade temel araçlardan biri olarak kullanıldığı kuvvetle önerilebilir.

5.2. X-Işını Kırınım Spektrometresi (XRD)

Böbrek taşı oluşum mekanizmalarının, gelişim şekillerinin ve ilişkili patolojik özelliklerin anlaşılması, hastalığın prevalansının artması ve taş bileşiminin sunumundaki çeşitlilik nedeniyle önem kazanmaktadır. Böbrek taşlarının mikroyapısal özelliklerine dayanarak saf ve karışık taş türlerinin patogenezindeki farklılıkları açıklamak mümkün olabilir. Böbrek taşlarının yapısı doğru belirlenirse hastalar için doğrudan koruyucu önlemler de alınabilir ve doğru tedavi kararlarının verilmesine yardımcı olabilir. Yeni taş oluşumlarında ve bazı tekrarlayan yüksek riskli taş oluşturan hastalarda, taş analizinin yapılmasının gerekliliği Avrupa Böbrek Ajansının (EAU) ve Amerikan Böbrek Ajansının (AUA) yayınladıkları kılavuzların bir parçasıdır. Bu çalışmada farklı mineralojideki (saf ve karışık tip) böbrek taşlarının mikroyapısı ve mineral bileşenlerinin dağılımı analiz edildi.

Erzincan Mengücek Gazi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji Bölümü'nde açık ameliyat veya perkütan nefrolitotomi yöntemiyle 30 böbrek taşı alındı. Tüm hastalara sosyo-demografik durum, tıbbi öykü ve şikayetlerini öğrenmek amacıyla yapılandırılmış gönüllü hasta onam formu dolduruldu. Ayrıca hastalardan kendilerine verilen böbrek taşları ile ilgili araştırma yapılması için izin alındı. Toplandıktan sonra plastik kaplara yerleştirildi. Tüm kan ve doku kalıntılarının tamamen uzaklaştırıldığından emin olmak için temizlenip etil alkol ile yıkandı. Toplanan tüm böbrek taşları, nem içeriğinin

giderilmesi için 60 °C’de bir saate kadar fırında kurutuldu ve kurutulan taş örneklerinin fotoğrafları çekildi (Şekil 4.25.).

Taşların kristal faz kompozisyonunu elde etmek amacıyla x-ışını kırınım analizi için ince gözenekli bir toz elde etmek amacıyla böbrek taşları akik havanda öğütüldü. X-ışını toz kırınım ölçümleri x-ışını jeneratörü (4kw, maksimum 60 kV, maksimum 100 mA) ile 3. nesil Malvern Empyrean (Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Temel Bilimler Araştırma Laboratuvarı) ile gerçekleştirildi. X-ışını kırınımı spektrometresinde benimsenen analitik koşullar şunlardır: (CuK) tüp 40 mA akım, 45kV voltaj ve 15 derece/sn hız.

Difraktometrik profillerin niteliksel yorumu, yansıma tepe noktalarının HighScore Plus’takilerle karşılaştırılması yoluyla elde edildi. Plus seçeneğine sahip HighScore, PANalytical’ın ticari toz kırınım analizi yazılımıdır. Tek bir program kullanıcının tüm olası kristalografik analizleri ve daha fazlasını gerçekleştirmesine olanak tanır. HighScore paketi içerisinde faz tanımlama, indeksleme, klasik ve klasik olmayan Rietveld iyileştirmeleri, toz kırınım verilerinden kristal yapıların çözülmesi ve istatistiksel yöntemlerin uygulanması ve büyük veri kümelerinin otomatik analizi mümkündür. Ek olarak hücre parametreleri mevcut fazları belirlemek amacıyla numunenizin kırınım desenini referans desenleri içeren bir veri tabanı ile karşılaştırmayı mümkün kılan açık kaynaklı bir yazılım olan MATCH yazılımı kullanılarak belirlendi. Numune hakkında bilinen fazlar, elementler veya yoğunluk gibi ek bilgiler de bulundu. Bu niteliksel analize ek olarak niceliksel bir analiz de Rietveld iyileştirmesi kullanılarak yapıldı.

X-ışını kırınım analizi (XRD) öncelikle malzeme biliminde bir malzemenin kristalografik yapısını belirlemek için kullanılan hızlı bir analitik tekniktir. Kristalin malzemeleri karakterize etmek için güçlü ve tahribatsız bir tekniktir. XRD’de bir numune gelen x-ışınlarıyla bombardımana tabi tutulur ve ardından terk eden x-ışınlarının yoğunlukları ve saçılma açıları ölçülür. Yapılar, fazlar, tercih edilen kristal yönelimleri (doku) ve ortalama tane boyutu, kristallik, gerinim ve kristal kusurları gibi diğer yapısal parametreler hakkında bilgi sağlanabilir. Analiz edilen malzeme ince bir şekilde öğütülür, homojenleştirilir ve ortalama kütle bileşimi belirlenir. X ışını kırınım teknikleri klinisyenlere böbrek taşları ile ilgili çok önemli bilgiler verir. Bu çalışmada XRD spektrometresi ile taşların kristal bileşiklerini karakterize etmede ve tanımlamada

kullanılmış ve mineral fazlarının yarı kantitatif ve kantitatif analizleri gerçekleştirilmiştir. Böbrek taşlarında faz analizi yapmanın kolay olmadığını söylemek yerinde olacaktır. Taşları oluşturan biyominerallerin çoğu düşük kristal simetrisine (monoklinik veya ortorombik) ve oldukça büyük birim hücre parametrelerine sahiptir. Ayrıca karışımlarının XRD desenlerinin güçlü örtüşen tepe noktalarına sahip olduğunu da belirtilmek faydalı olacaktır. Gerçek taş kompozisyonunun doğru belirlenmesi için doğru kantitatif elemental analiz verileriyle desteklenen yarı kantitatif XRD analizinin uygun olacağı düşünülmektedir. Bu nedenle Erzincan için böbrek taşlarının faz tanımlaması x-ışını kırınımı ile yapılırken sonuçlar SEM ve FTIR ile desteklendi. Toplanan tüm örneklerdeki idrar taşlarının mineral bileşimleri ve yüzdeleri Tablo 5.2.'de sunulmaktadır.

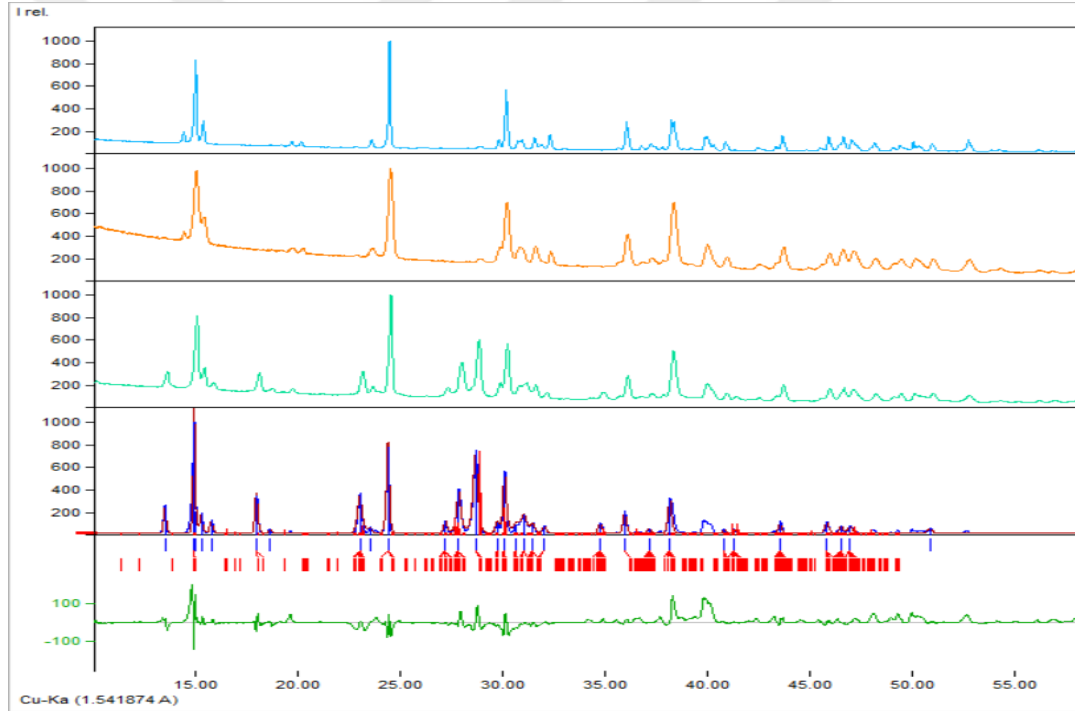
Elde edilen deneysel verilerden istifadeyle numunelerin her birinin matrisinde mono ve dihidrat kalsiyum oksalatlar (COM ve COD), ürik asit (UR) ve hidroksiapatit (HAP) fazları sunan kristalli bileşenlerin karışımları bulundu. Tüm numunelerimizde COM %65.8 ve KOD %17.53 oluşturmaktadır, yanı sıra numunelerinin en çoğu U.A olarak %81.15 teşhis edildi. tek fazlı ve karışımlarda oluşma oranı yaklaşık % 81.2'dir. XRD ile yapılan yarı kantitatif analizde ana bileşikler olarak oksalatlar (%57.66) ve fosfatlar (%13.60), karbon (CK) %22.98 bulunmuştur, geri kalan diğer elementler tablo 5.1'de verilmiştir. Ayrıca Rietveld düzeltmesi ile ana bileşenlerin oksalatlar (%38) ve fosfatlar (%24) olduğu bulundu. İncelenen 30 örnekten belirlenen 4 örnekte en çok karşılaşılan fazlar için XRD sonuçları Şekil 5.3.'de verilmiştir. Şekil 5.3.'de bazı numunelerin x-ışını kırınım desenleri arasındaki farklılıklar gösterilmiştir. Böbrek taşlarında 1 ila 4 arsında değişen değerlerde farklı mineral fazı bulunurken ayrıca bazı taşların kalsiyum oksalatlar, fosfatlar ve üratların karışımı nedeniyle çok karmaşık yapıda olduğu bulunmuştur.

Tablo 5.2. X-ışını kırınımıyla incelenen ve Rietveld iyileştirme yöntemi kullanılarak Match yazılımıyla hesaplanan bazı örneklerin nicelik hesaplamaları

N	Faz	Wt %	a	b	c	β	R _P	R _{WP}	R _{exp}	S
1	COD	55,7	9,97	7,29	6,29	107	4,6	8,05	2,6	1,65
	U.A	44,3	7,76	12,45	10,65	90				
3	COM	82	17,53	11,88	12,81	90	2,756	3,876	2,101	1,118
	COD	18	9,67	5,65	11,32	103,8				
4	COD	84,5	12,47	12,46	13,45	90	2,51	2,76	2,17	2,65
	COM	15,5	10,11	9,78	11,76	90				
5	U.A	100	14,45	7,45	6,18	64,9	1,3	1,45	2,27	1,897
7	U.A	100	14,44	7,44	6,19	65,1	1,29	1,44	2,25	1,885
8	U.A	100	14,47	7,455	6,19	65,1	1,29	1,44	2,25	1,885
10	COD	64,8	9,99	7,54	7,11	107,6	3,54	3,31	2,16	1,87
	U.A	35,2	10,11	12,43	9,87	90				
11	COD	59,3	11,62	14,71	21,08	90	9,84	9,55	5,49	1,44
	COM	40,7	7,32	14	10,93	90				
12	COD	97	9,98	7,3	6,29	107,1	5,19	3,94	8,41	2,19
	COM	3	5,65	11,41	10,98	90				
13	COD	72	9,98	7,29	6,29	107,02	6,53	5,69	4,31	1,89
	COM	28	6,54	10,65	8,98	90				
15	COD	86	9,97	7,29	6,29	107,01	2,44	2,44	3,98	2,23
	H.A	14	9,65	9,65	9,65	90				
16	COM	100	6,29	14,9	10,11	109,4	2,81	2,54	5,59	2,05
17	COD	93	12,35	12,35	7,35	90	12,9	7,1	6,0	4,98
	H.A	7								
18	COM	100	9,98	7,29	6,29	107,06	3,66	3,01	6,53	5,14
22	U.A	54	12,44	17,64	37,2	90	1,01	1,03	1,58	1,09
	COM	46	13,4	10,11	9,67	90				
24	COM	89	9,97	7,28	6,29	107,05	4,23	4,26	7,45	3,99
	U.A	11								
25	U.A	97,1	14,45	7,45	6,19	65,02	2,21	2,42	2,79	1,867
	COD	2,9	9,87	6,56	10,5	98,8				

N: Örnek numarası , Faz: Kristalin fazı veya kimyasal bileşiği, Wt %: Ağırlık yüzdesi (Bir örnekteki belirli bir fazın veya elementin toplam ağırlığın içindeki oranını temsil eder), a,b,c: Kristal yapı için hücre parametreleri, β : Debye-Waller faktörü (Atom titreşimlerinin etkilerini içeren bir faktördür), R_p , R_{wp} , R_{exp} : Rietveld iyileştirmesine dayanarak elde edilen uygunluk parametreleridir, S: Skaler bir değer.

Wheellite (kalsiyum oksalat monohidrat) fazının görüldüğü bir numunenin kırınım desenini gösterirken burada faz, numune için kompozit malzemelerin tepe noktalarını ve fazlarını netleştirmek üzere Rietveld Refinement kullanılarak Match yazılımı tarafından incelenmiştir. Analitik farklılıkları açıklığa kavuşturmak amacıyla bazı durumlarda herhangi bir Rietveld iyileştirmesi yapılmamıştır



Şekil 5.3. Dört numunenin X-ışını kırınım desenleri arasındaki farklar.

5.3. Fourier Dönüştümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR)

Fourier dönüştümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR), katı, sıvı ve gazın kızılötesi absorpsiyon, emisyon ve fotoiletkenlik spektrumunu elde etmek için kullanılan bir güçlü tekniktir. Bu yöntem, FTIR numunelerindeki organik ve inorganik bileşikler tanımlama yeteneği ile önemli bir analitik araçtır. Bilinmeyen malzemelerin tanımlanması,

malzemelerin karakterizasyonu, kirleticilerin tespiti, katkı maddelerinin bulunması ve bozunma/oksidasyon belirleme gibi bir dizi uygulama alanında başarıyla kullanılmaktadır. Numunede hakim olan spesifik moleküler gruplar, 400–4000 cm^{-1} kızılötesi absorpsiyon frekans aralığındaki spektrum verileri aracılığıyla belirlenir.

Fourier dönüşümlü kızılötesi (FT-IR) spektrometrisi, önceki ayırım sınırlamalarını aşmak ve tarama sürelerini hızlandırmak amacıyla geliştirilmiştir. Bu metot, interferometre adı verilen basit bir optik cihazın kullanımı ile tüm kızılötesi frekansları aynı anda ölçme yeteneği sağlar. Interferometre tarafından üretilen "kodlanmış" tüm kızılötesi frekanslara sahip sinyal, hızlı bir şekilde ölçülerek numune başına geçen süreyi önemli ölçüde azaltır.

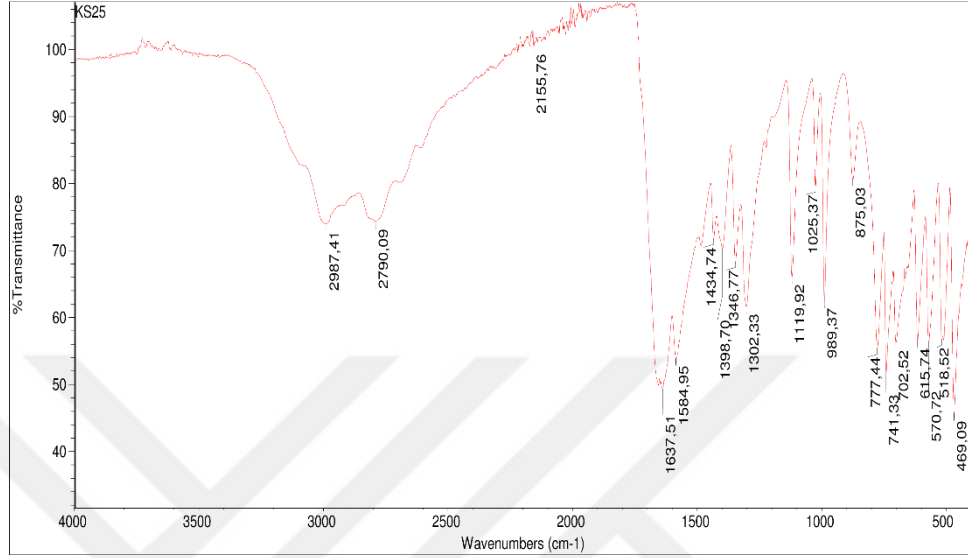
FT-IR spektrometrisinde ölçülen interferogram sinyali doğrudan yorumlanamaz, bu nedenle Fourier dönüşümü adı verilen matematiksel bir işlemle çözümlenmelidir. Bu dönüşüm, ölçülen sinyali sayısallaştırır ve bilgisayar tarafından gerçekleştirilen bir süreçle kızılötesi spektrumu elde eder. Bu spektrum, kullanıcıya analiz için gerekli spektral bilgiyi sunar. Ayrıca, göreceli bir ölçek için arka plan spektrumu da ölçülmelidir.

FT-IR dedektörlerinin hassasiyeti ve doğruluğu, çeşitli yazılım algoritmaları ile birleştirilerek nicel analizler için önemli ölçüde artırılmıştır. Bu gelişmeler, FTIR tabanlı ölçümlerin hassasiyetini artırırken, kızılötesi spektroskopiye bir dizi pratik avantaj kazandırmıştır. Ayrıca, FTIR tekniği sayesinde eski teknolojilerin zorlu problemlerin üstesinden gelmesine olanak tanıyan birçok yeni örnekleme tekniği geliştirilmiştir.

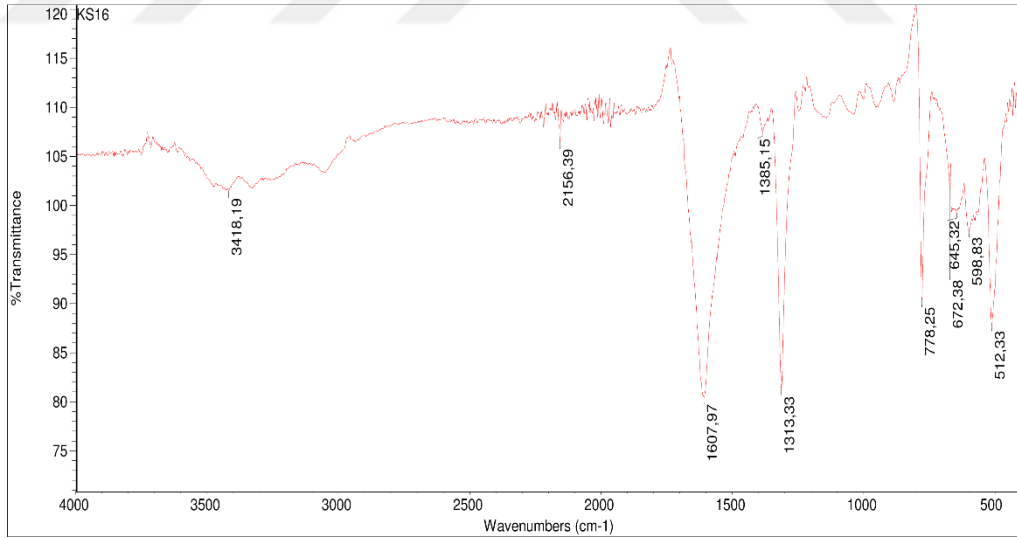
Çalışmamızda, 30 böbrek taşı FTIR tekniği kullanılarak incelenmiş ve taş bileşenlerinin semikantitatif tayini için veriler elde edilmiştir. FTIR spektrumları, Zayıflatılmış Toplam Yansıma (ATR) aksesuarı kullanılarak bir Nicolet iS5 FTIR spektrometresi üzerine kaydedilmiştir. ATR tekniği, FTIR analizlerinde kullanışlı bir yöntem olarak gözlenmiştir, çünkü numune hazırlama ve IR aktif olmayan bir malzeme ile karıştırma gibi işlemleri gerektirmez. Ayrıca, ATR'nin kullanılmasıyla FTIR tabanlı ölçümlerin hassasiyeti artmıştır.

Çalışmamızda elde edilen veriler, böbrek taşlarının kompozisyonu ve mikro yapısı arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermiştir. Farklı taş tipleri arasında gözlenen karakteristik bant farklılıkları, taşların oluşum nedenini ve fiziksel özelliklerini anlamak

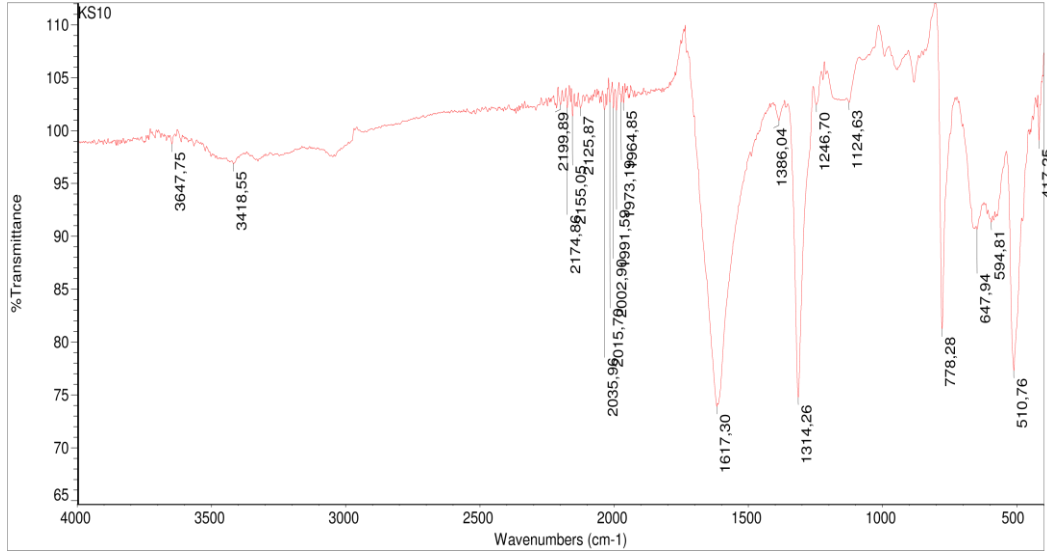
için değerli bilgiler sunmaktadır. FTIR spektroskopisi, böbrek taşlarının analizinde güçlü bir araçtır ve bu çalışma, FTIR tekniklerinin böbrek taşı araştırmalarında kullanımının önemini vurgulamaktadır.



Şekil 5.4.a. 400-4000 cm⁻¹ bölgesindeki böbrek taşı örneklerinin FTIR spektrumları



Şekil 5.4.b. 400-4000 cm⁻¹ bölgesindeki böbrek taşı örneklerinin FTIR spektrumları



Şekil 5.4.c. 400-4000 cm^{-1} bölgesindeki böbrek taşı örneklerinin FTIR spektrumları

Kalsiyum oksalat bu tez kapsamında çalıştığımız üriner taşların ana bileşenidir. Saf kalsiyum oksalat monohidrat 3486 ila 3060 cm^{-1} arasında beş bantla karakterize edilmekle birlikte bunlar simetrik ve asimetrik O-H germe modlarına aittir. Ayrıca C=O ve C-O'ya ait sırasıyla 1615 ve 1314 cm^{-1} 'de yüksek emilim gösteren bantlar bulunmaktadır. C-H bükülme moduna ve düzlem dışı O-H bükülmesine karşılık gelen 778 ve 668 cm^{-1} 'de iki bant vardır. O-C=O düzleminde bükülme 514 cm^{-1} 'de gözlemlenmiştir (Şekil 5.4.a.).

Üriner taşlarda en sık bulunan ürik asit tuzu anhidrit formu olup bu form N-H germe modlarına ait birçok bantın bulunduğu 2993-469 cm^{-1} aralığında kolayca tanınan karakteristik bir kızılötesi spektruma sahiptir. Tam olarak dört yüksek bant, sırasıyla 790, 019, 2993 ve 3016 cm^{-1} 'de N-H germe modlarına karşılık gelir ve diğer α ve β hidrojen bağları (O...H) 3500–3100 cm^{-1} aralığında görünür. İkinci karakteristik bantlar; üre gruplarının amidin karbonil (C=O)'ya atfedilen 1585 cm^{-1} 'de ortaya çıkar. C-N titreşimleri sırasıyla O=C-N ve C=N çift bağlarına ait 1093 cm^{-1} ve 1018 cm^{-1} 'de yer alır (Şekil 5.4.b.).

2993 cm^{-1} 'de gözlemlenen banda N-H ikincil amin gerilmesi neden olurken, 1615 cm^{-1} ve 1314 cm^{-1} 'de gözlemlenen bantlara sırasıyla CO_2 'nin asimetrik ve simetrik gerilme titreşimleri sebep olmaktadır. Şekillerde, 778 cm^{-1} ve 514 cm^{-1} 'deki bantlar, O = CO

bükülme düzlemini ve CO₂'nin titreşim modunu gösteren oksalatların parmak izleridir (Cruz-May vd., 2021).

1093 ve 990 cm⁻¹'deki zayıf ve yoğun bantlar, C-C bağlarının gerilmesine atfedilebilirken, 1587 cm⁻¹'deki bant, konjuge amidin karbonil grubu ile ilişkilendirilmiştir (Tonannavar vd., 2016; Sekkoum vd., 2016). Tablo 5.2.'de, Şekil 5.4.'de verilen FTIR spektrumlarının ana sinyalleri listelenmiştir.

780 cm⁻¹'de ki soğurma, metal-oksijen, δ (O-C=O) veya P-O-P gibi asimetric gerilme titreşimlerinin varlığından kaynaklanabilirken, 660 cm⁻¹ ve 518 cm⁻¹'oronundaki titreşimler ise CO₂ veya (HO) P=O'nun salınımından kaynaklanmaktadır. İdrar taşlarının çeşitleri aynı olduğundan FTIR spektrumlarında benzer olduğu şekillerden görülebilir. Ayrıca, kalsiyum oksalat, kalsiyum hidrojen fosfat dihidrat (CHPD-brushite) ve amonyum magnezyum fosfat heksahidrat (struvit) gibi idrar taşları karışık formda olduğunda FTIR spektrumlarında farklı olduğu bu çalışma ile belirlenmiştir.

İki kalsiyum oksalat türü üriner taşlarda sıkça görülen kalsiyum oksalat monohidrat (whewellite) ve dihidrat (weddellite)'tir. Bunlardan biri aynı karışımda aşırı miktarda bulunduğu, minör bileşenin tanımlanması zor olabilir. Farkı belirlemek için 3600–3000, 1400–1300 ve 800–400 cm⁻¹ kızılötesi bölgelerinin dikkatlice incelenmesi önemlidir. Whewellite'i weddellite'den ayırt etmek için 780 ve 515 cm⁻¹'de bölgesinde iki bantın belirgin olması çok önemlidir. Kalsit nadiren üriner taşlarda bulunur ve varlığı sırasıyla karbonat iyonunun asimetric gerilmesine, düzlem dışı bükülmesine ve düzlem içi bükülmesine karşılık gelen 878 ve 768,651,513 cm⁻¹'de dört bantla belirlenir. Monohidrat kalsiyum oksalat taşı oluşumu genellikle birincil hiperoksalüriye bağlıdır. Buna karşılık dihidrat formu renal hiperkalsiüriye bağlıdır. Amonyum ürat genellikle kalsiyum oksalat monohidrat ile birlikte insan üriner taşlarında bulunur ve genellikle yüksek hiperürikosüri sonucu oluşur.

Tablo 5.3. Olası IR tanımlamaları ve bileşikleri ile birlikte FTIR spektroskopisi ile tespit edilen numunelerin karakteristik bantları

Dalga sayısı (cm ⁻¹)					IR tanımlaması
COM	COD	Urık asit	Apatite	MAPH	
3486	3472	-	-	-	O-H simetrik ve asimetrik titreşimler
3272	3322	-	3125	-	Su titreşimleri
3041	-	-	-	-	O-H tekli titreşimler
-	-	2993	-	-	N-H ikincil amin gerilmesi
-	-	2790	-	-	N-H titreşimi
-	-	2019	-	-	C=N titreşimi
-	-	-	1678	-	O-H deformasyon
1615	1624	-	1609	-	COO asimetrik titreşimler
-	-	1585	-	-	C=O konjuge amin içinde bağ
-	-	-	-	1434	PO ₄ grup
1374	1370	-	-	-	C-C titreşimi
1314	1309	-	-	-	COO simetrik titreşimler
-	-	-	1093	-	PO ₄ ⁻³ gerilmesi
10549	1028	-	1018	-	PO ₄ ⁻ gerilmesi
-	-	990	-	-	C-C bond gerilmesi
950	949	-	-	-	C-O gerilmesi
-	-	-	-	878	PO ₄ ⁻ grup
883	878	875	-	-	C-C gerilmesi
778	768	780	778	779	C-C gerilmesi
-	-	-	-	751	PO ₄ ⁻³ grup
668	651	-	-	-	Düzlem dışı O-H bükülmesi
-	-	-	609	-	OP=O titreşimi
571	562	-	552	-	O-P-O titreşimi
514	53	-	508	-	Düzlem içi O C-O bükülmesi
-	-	-	-	453	PO ₄ ⁻³ grup
-	-	469	-	-	NH ₄ ⁺ deformasyon

IR gibi titreşim spektroskopisi böbrek taşı hastalığı taraması gibi farklı klinik uygulamalarda açıkça umut vericidir. Bu çalışma, böbrek taşı olan hastalarda herhangi bir nüks veya kronik böbrek yetmezliğine potansiyel ilerlemeyi önlemek için taş analizinin önemini vurgulamak için Türkiye, Erzincan'da taş bileşiminin bölgesel bir analizini sunmaktadır. Literatürde karşılaştığımız bulgulara benzer şekilde, FTIR spektrometresi ile yaptığımız çalışma sonuçları da iyi bir hassasiyet göstermiş ve taşları oluşturan elementlerin büyük bir doğrulukla tanımlanmasına olanak sağlamıştır. Mevcut çalışmada, böbrek taşları üzerine yapılan FTIR çalışması, böbrek taşlarının esas olarak COM, kalsiyum fosfat, magnezyum amonyum fosfat, kalsiyum karbonat ve ürik asitten oluştuğunu göstermiştir. Ayrıca bu çalışma ile elde edilen önemli sonuçlardan biri de FTIR tekniği kullanılırken faydalı sonuçlar elde edilecekse taşın olası tüm katmanlarının ayrı ayrı analiz edilmesi gerektiğidir.

6. SONUÇ ve ÖNERİ

Böbrek taşı dünya çapında hastaneye başvuruların hastaların yaklaşık %1'ini oluştururken ve yılda yaklaşık 80.000 acil servis ziyaretinin nedenidir. Hipertansiyon, obezite, diyabet ve osteoporoz ile ilişkisi nedeniyle doktorlar nefrolitiazisli hastalarla giderek daha fazla karşılaştığını dile getirmektedir.

Taş büyümesi, aşırı doymuş idrarda kristallerin oluşmasıyla başlar ve bunlar daha sonra ürotelyuma yapışır, böylece daha sonraki taş büyümesi için ortam oluşturulur. Kristalleri ürotelyuma bağlayan biyolojik süreçler tam olarak anlaşılamamıştır. Kalsiyum oksalat taşlarının hepsi olmasa da çoğu, kalsiyum fosfat (= hidroksiapatit) kristallerinden oluşan Randall plakları üzerinde gelişir. Bunlar büyüyerek ürotelyumu aşındırır ve kalsiyum oksalat birikimi için bir çekirdek oluşturur. Daha yeni teoriler, kristal yapışmasını destekleyen veya engelleyen hücre yüzeyi moleküllerinin rolüne odaklanmaktadır. Bir taş olayından sonra ürotelyal hasar ve onarım, bu moleküllerin yüzey ekspresyonunu arttırarak daha fazla kristal yapışmasını kolaylaştırabilir. Bu nedenle 'taşlar taşları doğurur' çünkü üzerinde başka taşların oluşabileceği bir çekirdek kalıntısı olabilir ve/veya kristal yapışmasını destekleyen moleküllerin yukarı regülasyonu olabilir. Taş önleme, kristal oluşumuna ilişkin risk faktörlerinin belirlenmesine ve iyileştirilmesine odaklanır.

Tekrarlayan taş oluşturanların büyük çoğunluğunun durumlarının altında yatan bilinen bir neden yoktur. Dikkatli bir öykü, bireyin taş hastalığı riskine katkıda bulunan bir dizi beslenme ve yaşam tarzı risk faktörünü ortaya çıkarabilir. Diyet ve yaşam tarzı faktörlerinin, taş oluşumuna zemin hazırlayan genetik polimorfizmlerin fenotipik ifadesi üzerindeki etkisinin daha iyi anlaşılması, gelecekte taşların önlenmesine yönelik daha özel bir yaklaşımı kolaylaştırabilir.

Yüksek kaliteli taş analizi, hangi tanı ve tedavinin temel alınabileceği konusunda doğru bilgi sağlamada yardımcı olur. Çok sayıda hastane laboratuvarında kullanılan analiz teknikleri düşük performansta olup bu alanda ki analitik uygulamalar zayıf kalmaktadır. Bu nedenle de böbrek taşı bileşenlerinin analizinde daha tatmin edici performans alabilmek için uzmanlığı olan laboratuvarlara yada uzman merkezlere yönlendirmesi

düşünmelidir. Bu türden sevk merkezleri "parmak izi taramaları" ile tanımlayabilmeleri ve aynı zamanda yeni ve nadir böbrek taşı bileşenlerini belirleyebilmede kızılötesi spektroskopi gibi metodolojileri benimseyebilmelidirler. Bu uzman merkezler çok çeşitli taş bileşenlerine maruz kalmaları sonucunda yüksek düzeyde yorumlayıcı uzmanlığa sahip olmalı ve böbrek taşı hastalığının gelecekteki epidemiyolojik eğilimlerinin tanınabileceği bulgularının kümülatif bir veri tabanını işletebilmelidir.

Sonuç olarak, taşın türüne ve idrarda bulunma durumuna bağlı olarak eser elementler böbrek taşının içine karışır ve özelliklerini etkileyebilir. Taş hastalarının ve sağlıklı kişilerin kan, idrar ve serumunda bazı eser elementlerin nefrolitiazisteki rollerini açıkça gösteren önemli farklılıklar gözlenmiştir. Her taş grubundaki elementler arasında bazı korelasyonlar açıkça gözlemlendi. Ca ve diğer eser elementler arasında da bir korelasyon bulunmuştur; bu da eser elementlerin taş oluşumu ve büyümesi sırasında meydana gelen süreçle alakalı olduğunu göstermektedir. Elementlerin böbrek taşı oluşumu ve büyümesindeki kesin rolünün anlaşılması için in vitro ve in vivo çalışmalara ihtiyaç vardır. Literatür incelendiğinde böbrek taşlarının kristal bileşenler de dahil olmak üzere çok bileşenli olduğu açıkça görülmektedir. Bu nedenle böbrek taşlarının analizinde kullanılacak tekniğin seçimi, taşların tüm bileşenlerini çözümleyebilecek nitelikte olmalıdır. Yayınlanmış çalışmalar, tercih edilen analitik yöntemler olarak FT-IR, Raman veya XRD'nin kullanımını desteklemektedir. Patogenezine ilişkin yararlı sonuçlar elde etmek için taşların farklı bölgelerinin hem elementel hem de moleküler düzeyde ayrı ayrı analiz edilmesi gerekir. Böbrek taşlarının artan insidansı, bu patolojinin dünya çapındaki morbiditesini ve büyük ekonomik kayıplarını artırmaktadır.

Üriner taşların yapısının ve bileşiminin analizi, taş oluşum süreci hakkında değerli bilgiler sağlayabilir. Böbrek taşları üzerine 2020 yılından beri yaptığımız araştırmalar, her tip idrar taşının benzersiz mikroyapılara, morfolojilere, elemental bileşime ve dağılıma sahip olduğunu göstermektedir. Farklı idrar taşlarının oluşum mekanizmasının aynı olmadığını da yaptığımız çalışmalara dayanarak söyleyebiliriz. Hastalar arasında karışık taş çeşitliliğinin yüksek olması, çekirdeklenme sürecinin, diğer idrar kristallerinin bir araya toplanmasını destekleyebilecek ve taşın tutulmasını kolaylaştırabilecek rastgele olaylar olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle böbrek taşlarındaki farklı mineral türlerinin göreceli dağılımının daha kesin ve doğru bir teknoloji kullanılarak anlaşılması önemlidir.

Böbrek taşlarını analiz etmek için kullanılan birçok yöntem vardır ancak bu çalışmada böbrek taşlarının kantitatif analizi ve morfolojisi için FTIR-ATR ve SEM-EDS kullanılmıştır. Üriner taşların bileşimi ve faz saflığı XRD tekniği ile doğrulanmıştır. Kızılötesi spektroskopi, böbrek taşının içerdiği minerallerin niceliksel olarak belirlenmesinde çok etkilidir çünkü bu yöntem bileşimdeki değişikliklere oldukça duyarlıdır. SEM-EDS, böbrek taşlarının element bileşimine ilişkin morfolojik çalışmalar ve yüzde bilgileri için en yaygın kullanılan araçtır. İki veya daha fazla bileşen içeren taşlarda fazlar arasındaki ilişki de dahil olmak üzere, taşların yapısındaki bileşenlerin belirlenmesi ve iç yapısının incelenmesiyle böbrek taşları hakkında önemli bilgiler elde edilebilir. Aslında her böbrek taşının mineral bileşimi, kimyasal yapısı ve morfolojisi birbirinden farklıdır. Taşlar için anlamlı sonuçlar üretebilmek amacıyla idrar taşı örneklerinin oluşum aşamasına yönelik XRD analizi kullanılarak morfolojik analiz yapıldı. Ayrıca fazların morfolojisi ve kimyasal bileşimi SEM-EDS analizi ile belirlendi. EDAX ölçümleri bazı önemli küçük elementlerin tanımlanmasına olanak tanır ve taş içindeki kimyasal çeşitliliği ortaya çıkarabilir. Erzincan'da idrar taşı profilinin belirlenebilmesi için daha fazla hastadan böbrek taşı toplanması ve daha fazla tıbbi çalışma yapılması gerekmektedir. Ayrıca hastalardan idrar ve kan örnekleri alınarak muayene edilmeli, yaş, cinsiyet, yaşam alışkanlıkları (beslenme alışkanlıkları, su, süt gibi sıvı tüketim oranları), tıbbi tedaviler, daha önce böbrek taşı şikayeti olup olmadığı incelenmelidir. Bölgede tüketilen suyun yapısal analizi ve çevredeki idrar taşlarının oluşumunun bilinmesi gelecekteki çalışmalara büyük katkı sağlayacaktır. Bu çalışma böbrek taşı katmanlarının patolojisinin anlaşılması, tıpta karar verilmesi, önleme stratejileri ve böbrek taşlarının tedavisinde daha ileri araştırmalar için objektif bir temel sağlamaktadır.

Böbrek taşlarındaki her katmanın farklı element yüzdesine ve bileşimine sahip olduğuna dair kanıtlar bulunmuş olup grubumuz gelecekteki çalışmalarında böbrek taşlarının katmanlarını ölçmeyi amaçlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Aggarwal, K. P., Narula, S., Kakkar, M., & Tandon, C. (2013) "Nephrolithiasis: molecular mechanism of renal stone formation and the critical role played by modulators", **BioMed research international**, 31-35.
- Ahmed, S., Hasan, M. M., & Mahmood, Z. A. (2016) "In vitro urolithiasis models: An evaluation of prophylactic management against kidney stones", **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, 5(3), 28-35.
- Al, K. F., Daisley, B. A., Chanyi, R. M., Bjazevic, J., Razvi, H., Reid, G., & Burton, J. P. (2020) "Oxalate-degrading *Bacillus subtilis* mitigates urolithiasis in a *Drosophila melanogaster* model", **Msphere**, 5(5), 10-1128.
- Alexander, R. T., McArthur, E., Jandoc, R., Welk, B., Fuster, D. G., Garg, A. X., & Quinn, R. R. (2018) "Thiazide diuretic dose and risk of kidney stones in older adults: a retrospective cohort study", **Canadian journal of kidney health and disease**, 5.
- Al-jalawee, H. A. (2022) "Study of phase and morphological characterization of kidney stones by using x-ray diffractometer and scanning electron microscopy", Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, **Erzincan Binali Yildirim Üniversitesi**, Erzincan, 40- 51.
- Asyana, V., Haryanto, F., Fitri, L. A., Ridwan, T., Anwary, F., & Soekersi, H. (2016) "Analysis of urinary stone based on a spectrum absorption FTIR-ATR", **In Journal of Physics: Conference Series**, (Vol. 694, No. 1, p. 012051).
- Atan, L., Andreoni, C., Ortiz, V., Silva, E. K., Pitta, R., Atan, F., & Srougi, M. (2005) "High kidney stone risk in men working in steel industry at hot temperatures", **Urology**, 65(5), 858-861.
- Aune, D., Mahamat-Saleh, Y., Norat, T., & Riboli, E. (2018) "Body fatness, diabetes, physical activity and risk of kidney stones: a systematic review and meta-analysis of cohort studies", **European journal of epidemiology**, 33, 1033-1047.
- Barbas, C., Garcia, A., Saavedra, L., & Muros, M. (2002) "Urinary analysis of nephrolithiasis markers", **Journal of Chromatography B**, 781(1-2), 433-455.
- Barros, M. E., Schor, N., & Boim, M. A. (2003) "Effects of an aqueous extract from *Phyllanthus niruri* on calcium oxalate crystallization in vitro", **Urological research**, 30, 374-379.
- Basavaraj, D. R., Biyani, C. S., Browning, A. J., & Cartledge, J. J. (2007) "The role of urinary kidney stone inhibitors and promoters in the pathogenesis of calcium containing renal stones", **EAU-EBU update series**, 5(3), 126-136.
- Bazin, D., Daudon, M., Chevallier, P., Rouziere, S., Elkaim, E., Thiaudiere, D., ... & Véron, E. (2006, March) "Les techniques de rayonnement synchrotron au service de la

caractérisation d'objets biologiques: un exemple d'application, les calculs rénaux”, **In Annales de Biologie Clinique** (Vol. 64, No. 2, pp. 125-139).

Bensatal, A., & Ouahrani, M. R. (2008) “Inhibition of crystallization of calcium oxalate by the extraction of *Tamarix gallica* L”, **Urological research**, 36(6), 283-287.

Bhojani, N., Bjazevic, J., Wallace, B., Lee, L., Kaler, K. S., Dion, M., ... & Razvi, H. (2022) “UPDATE–Canadian Urological Association guideline: Evaluation and medical management of kidney stones”, **Canadian Urological Association Journal**, 16(6), 175.

Blanco, F., Ortiz-Alías, P., López-Mesas, M., & Valiente, M. (2015) “High precision mapping of kidney stones using μ -IR spectroscopy to determine urinary lithogenesis”, **Journal of biophotonics**, 8(6), 457-465.

Borghi, L., Meschi, T., Amato, F., Briganti, A., Novarini, A., & Giannini, A. (1996) “Urinary volume, water and recurrences in idiopathic calcium nephrolithiasis: a 5-year randomized prospective study”, **The Journal of urology**, 155(3), 839-843.

Bouderlique, E., Tang, E., Perez, J., Coudert, A., Bazin, D., Verpont, M. C., ... & Letavernier, E. (2019) “Vitamin D and calcium supplementation accelerates Randall's plaque formation in a murine model”, **The American Journal of Pathology**, 189(11), 2171-2180.

Çakıroğlu, B., Eyyupoğlu, E., Hazar, A. I., Uyanik, B. S., & Nuhoglu, B. (2016) “Metabolic assessment of recurrent and first renal calcium oxalate stone formers”, **Archivio Italiano di Urologia e Andrologia**, 88(2), 101-105.

Canales, B. K., & Gonzalez, R. D. (2014) “Kidney stone risk following Roux-en-Y gastric bypass surgery”, **Translational andrology and urology**, 3(3), 242.

Carlos, S., De La Fuente-Arrillaga, C., Bes-Rastrollo, M., Razquin, C., Rico-Campà, A., Martínez-González, M. A., & Ruiz-Canela, M. (2018) “Mediterranean diet and health outcomes in the SUN cohort”, **Nutrients**, 10(4), 439.

Charafi, S., Mbarki, M., COSTA, B. A., Prieto, R. M., Oussama, A., & Grases, F. (2010) “A comparative study of two renal stone analysis methods.

Chariyavilaskul, P., Pongpaiboj, P., Chaisawadi, S., Boonla, C., Dissayabutra, T., Prapunwattana, P., & Tosukhowong, P. (2015) “In Vitro anti-lithogenic activity of lime powder regimen (LPR) and the effect of LPR on urinary risk factors for kidney stone formation in healthy volunteers”, **Urolithiasis**, 43, 125-134.

Chatterjee, P., Chakraborty, A., & Mukherjee, A. K. (2018) “Phase composition and morphological characterization of human kidney stones using IR spectroscopy, scanning electron microscopy and X-ray Rietveld analysis”, **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, 200, 33-42.

Chaudhary, A., Singla, S. K., & Tandon, C. (2010) “In vitro evaluation of *Terminalia arjuna* on calcium phosphate and calcium oxalate crystallization”, **Indian journal of pharmaceutical sciences**, 72(3), 340.

Chen, C. H., Lee, J. I., Jhan, J. H., Lee, Y. C., Geng, J. H., Chen, S. C., ... & Kuo, C. H. (2021) "Secondhand smoke increases the risk of developing kidney stone disease", *Scientific reports*, 11(1), 17694.

Cheng, J. W., Wagner, H., Asplin, J. R., Hodgkin, G., Schlaifer, A., Fargusson, M., ... & Baldwin, D. D. (2019) "The effect of lemonade and diet lemonade upon urinary parameters affecting calcium urinary stone formation", *Journal of endourology*, 33(2), 160-166.

Chhiber, N., Sharma, M., Kaur, T., & Singla, S. (2014) "Mineralization in health and mechanism of kidney stone formation", *International Journal of Pharmaceutical Science Invention*, 3, 25-31.

Chutipongtanate, S., Sutthimethakorn, S., Chiangjong, W., & Thongboonkerd, V. (2013) "Bacteria can promote calcium oxalate crystal growth and aggregation", *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 18, 299-308.

Coe, F. L., Evan, A., & Worcester, E. (2005) "Kidney stone disease", *The Journal of clinical investigation*, 115(10), 2598-2608.

Coe, F. L., Evan, A., & Worcester, E. (2005) "Kidney stone disease", *The Journal of clinical investigation*, 115(10), 2598-2608.

Courbebaisse, M., Prot-Bertoye, C., Bertocchio, J. P., Baron, S., Maruani, G., Briand, S., ... & Houillier, P. (2016) "Nephrolithiasis of adult: From mechanisms to preventive medical treatment", *La Revue de Medecine Interne*, 38(1), 44-52.

Curhan, G. C., Willett, W. C., Speizer, F. E., Spiegelman, D., & Stampfer, M. J. (1997) "Comparison of dietary calcium with supplemental calcium and other nutrients as factors affecting the risk for kidney stones in women", *Annals of internal medicine*, 126(7), 497-504.

Dal Moro, F., Mancini, M., Tavolini, I. M., De Marco, V., & Bassi, P. (2005) "Cellular and molecular gateways to urolithiasis: a new insight", *Urologia internationalis*, 74(3), 193-197.

D'Ascenzo, G., Curini, R., de Angelis, G., Cardarelli, E., Magri, A., & Miano, L. (1983) "Renal calculi analysis. Application of thermal analytical techniques", *Thermochimica acta*, 62(2-3), 149-169.

Daudon, M., & Bazin, D. (2013,) "When the Synchrotron radiations highlight the Randall's plaques and kidney concretions", *In Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 425, No. 2, p. 022006).

Daudon, M., Bader, C. A., Jungers, P., Beaugendre, O., & Hoarau, M. P. (1993) "Urinary calculi: review of classification methods and correlations with etiology", *Scanning Microscopy*, 7(3), 32.

Daudon, M., Dessombz, A., Frochot, V., Letavernier, E., Haymann, J. P., Jungers, P., & Bazin, D. (2016) "Comprehensive morpho-constitutional analysis of urinary stones

improves etiological diagnosis and therapeutic strategy of nephrolithiasis”, *Comptes Rendus Chimie*, 19(11-12), 1470-1491.

Daudon, M., Jungers, P., & Bazin, D. (2008) “Peculiar morphology of stones in primary hyperoxaluria ”, *New England Journal of Medicine*, 359(1), 100-102.

Detsyk, O., & Solomchak, D. (2017) “The impact of cigarette smoking, alcohol drinking and physical inactivity on the risk of urolithiasis occurrence and recurrence”, *Wiadomosci Lekarskie (Warsaw, Poland: 1960)*, 70(1), 38-42.

Douglas, D. E., & Tonks, D. B. (1979) “The qualitative analysis of renal calculi with the polarising microscope”, *Clinical biochemistry*, 12(5), 182-183.

Durak, I., Yasar, A., Yurtarslani, Z., Akpoyraz, M., & Tasman, S. (1988) “Analysis of magnesium and trace elements in urinary calculi by atomic absorption spectrophotometry”, *British Journal of Urology*, 62(3), 203-205.

Durdağı, S. P., Al-Jalawee, A. H. H., Yalçın, P., Bozkurt, A. S., & Salcan, S. (2023) “Morphological characterization and phase determination of kidney stones using X-Ray diffractometer and scanning electron microscopy”, *Chinese Journal of Physics*, 83, 379-388.

Ermer, T., Nazzari, L., Tio, M. C., Waikar, S., Aronson, P. S., & Knauf, F. (2023) “Oxalate homeostasis”, *Nature Reviews Nephrology*, 19(2), 123-138.

Espino-Grosso, P. M., & Canales, B. K. (2017) “Kidney stones after bariatric surgery: risk assessment and mitigation”, *Bariatric surgical practice and patient care*, 12(1), 3-9.

Evan, A. P. (2010) “ Physiopathology and etiology of stone formation in the kidney and the urinary tract”, *Pediatric Nephrology*, 25, 831-841.

Evan, A. P., Lingeman, J. E., Coe, F. L., Parks, J. H., Bledsoe, S. B., Shao, Y., ... & Grynpas, M. (2003) “ Randall’s plaque of patients with nephrolithiasis begins in basement membranes of thin loops of Henle”, *The Journal of clinical investigation*, 111(5), 607-616.

Evan, A., Lingeman, J., Coe, F. L., & Worcester, E. (2006) “ Randall's plaque: pathogenesis and role in calcium oxalate nephrolithiasis”, *Kidney international*, 69(8), 1313-1318.

Fazil Marickar, Y. M., Lekshmi, P. R., Varma, L., & Koshy, P. (2009) “Elemental distribution analysis of urinary crystals”, *Urological research*, 37, 277-282.

Ferraro, P. M., Mandel, E. I., Curhan, G. C., Gambaro, G., & Taylor, E. N. (2016) “Dietary protein and potassium, diet-dependent net acid load, and risk of incident kidney stones”, *Clinical journal of the American Society of Nephrology: CJASN*, 11(10), 1834.

Ferraro, P. M., Taylor, E. N., Gambaro, G., & Curhan, G. C. (2013) “Soda and other beverages and the risk of kidney stones”, *Clinical journal of the American Society of Nephrology: CJASN*, 8(8), 1389.

Ferraro, P. M., Taylor, E. N., Gambaro, G., & Curhan, G. C. (2017) “Vitamin D intake and the risk of incident kidney stones”, *The Journal of urology*, 197(2), 405-410.

Ferraz, R. R. N., & Aquino, S. (2014) “Urinary lithiasis in civil construction workers as a management indicator for health and improvement in personnel”, *Ciência & Saúde Coletiva*, 19, 4759-4766.

Gadiyar, N., Geraghty, R. M., Premakumar, Y., & Somani, B. K. (2022) “Changes in urine composition and risk of kidney stone disease following bariatric surgery: a systematic review over last 2 decades”, *Current Urology Reports*, 23(11), 279-295.

Giannossi, M. L., & Summa, V. (2012) “A review of pathological biomineral analysis techniques and classification schemes”, *An introduction to the study of mineralogy*, 123-146.

Griffith, D. P. (1978) “Struvite stones”, *Kidney international*, 13(5), 372-382.

Grover, P. K., Ryall, R. L., & Marshall, V. R. (1990) “Does Tamm-Horsfall mucoprotein inhibit or promote calcium oxalate crystallization in human urine?”, *Clinica chimica acta*, 190(3), 223-238.

Huang, Y., Zhang, Y. H., Chi, Z. P., Huang, R., Huang, H., Liu, G., ... & Cao, S. Z. (2020) “The handling of oxalate in the body and the origin of oxalate in calcium oxalate stones”, *Urologia internationalis*, 104(3-4), 167-176.

Hubbard, C. R., & Snyder, R. L. (1988) “RIR-measurement and use in quantitative XRD”, *Powder Diffraction*, 3(2), 74-77.

Itoh, Y., Yasui, T., Okada, A., Tozawa, K., Hayashi, Y., & Kohri, K. (2005) “Preventive effects of green tea on renal stone formation and the role of oxidative stress in nephrolithiasis”, *The Journal of urology*, 173(1), 271-275.

Jaturakan, O., Dissayabutra, T., Chaiyabutr, N., Kijawornrat, A., Tosukhowong, P., Rungsipipat, A., ... & Buranakarl, C. (2017) “Combination of vitamin E and vitamin C alleviates renal function in hyperoxaluric rats via antioxidant activity”, *Journal of Veterinary Medical Science*, 79(5), 896-903.

Jenkins, R., Holomany, M., & Wong-Ng, W. (1987) “On the need for users of the Powder Diffraction File to update regularly”, *Powder Diffraction*, 2(2), 84-87.

Jeong, B. C., Kim, B. S., Kim, J. I., & Kim, H. H. (2006) “Effects of green tea on urinary stone formation: an in vivo and in vitro study”, *Journal of endourology*, 20(5), 356-361.

Joost, J., & Tessadri, R. (1987) “Trace element investigations in kidney stone patients”, *European urology*, 13(4), 264-270.

Jubayir, Y. H. (2023) "Fourier dönüşümlü kızılötesi (ftir) spektroskopi ile böbrek taşlarının incelenmesi", Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, **Erzincan Binali Yildirim Üniversitesi**, Erzincan, 20- 33.

Kaiser, J., Holá, M., Galiová, M., Novotný, K., Kanický, V., Martinec, P., ... & Kořistková, T. (2011) "Investigation of the microstructure and mineralogical composition of urinary calculi fragments by synchrotron radiation X-ray microtomography: a feasibility study", **Urological research**, 39, 259-267.

Kajander, E. O., & Çiftçioglu, N. (1998) "Nanobacteria: an alternative mechanism for pathogenic intra-and extracellular calcification and stone formation", **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 95(14), 8274-8279.

Kasidas, G. P., Samuelli, C. T., & Weir, T. B. (2004) "Renal stone analysis: why and how?", **Annals of clinical biochemistry**, 41(2), 91-97.

Khalili, P., Jamali, Z., Sadeghi, T., Esmaeili-Nadimi, A., Mohamadi, M., Moghadam-Ahmadi, A., ... & Nazari, A. (2021) "Risk factors of kidney stone disease: a cross-sectional study in the southeast of Iran", **BMC urology**, 21, 1-8.

Khamchun, S., Yoodee, S., & Thongboonkerd, V. (2021) "Dual modulatory effects of diosmin on calcium oxalate kidney stone formation processes: Crystallization, growth, aggregation, crystal-cell adhesion, internalization into renal tubular cells, and invasion through extracellular matrix", **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 141, 111903.

Khan, A., Bashir, S., & Khan, S. R. (2021) "Antiurolithic effects of medicinal plants: results of in vivo studies in rat models of calcium oxalate nephrolithiasis—a systematic review", **Urolithiasis**, 49(2), 95-122.

Khan, S. R. (2006) "Renal tubular damage/dysfunction: key to the formation of kidney stones", **Urological research**, 34, 86-91.

Khan, S. R. (2014) "Reactive oxygen species, inflammation and calcium oxalate nephrolithiasis", **Translational andrology and urology**, 3(3), 256.

Khan, S. R., & Kok, D. J. (2004) "Modulators of urinary stone formation", **Frontiers in Bioscience-Landmark**, 9(2), 1450-1482

Khan, S. R., Glenton, P. A., Backov, R., & Talham, D. R. (2002) "Presence of lipids in urine, crystals and stones: implications for the formation of kidney stones", **Kidney International**, 62(6), 2062-2072.

Khaskheli, M. H., Sherazi, S. T. H., UJAN, H., & Mahesar, S. A. (2012) "Transmission FT-IR spectroscopic analysis of human kidney stones in the Hyderabad region of Pakistan", **Turkish Journal of Chemistry**, 36(3), 477-483.

Knoll, T. (2010) "Epidemiology, pathogenesis, and pathophysiology of urolithiasis", **European urology supplements**, 9(12), 802-806.

Kok, D. J., Papapoulos, S. E., & Bijvoet, O. L. (1990) "Crystal agglomeration is a major element in calcium oxalate urinary stone formation ", *Kidney international*, 37(1), 51-56.

Krambeck, A. E., Handa, S. E., Evan, A. P., & Lingeman, J. E. (2010) "Brushite stone disease as a consequence of lithotripsy? ", *Urological research*, 38, 293-299.

Krieger, N. S., Asplin, J. R., Frick, K. K., Granja, I., Culbertson, C. D., Ng, A., ... & Bushinsky, D. A. (2015) "Effect of potassium citrate on calcium phosphate stones in a model of hypercalciuria", *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 26(12), 3001.

Krieger, N. S., Grynepas, M., VandenEynde, A., Asplin, J. R., Frick, K. K., Kim, M. H., ... & Bushinsky, D. A. (2019) "Low sodium diet decreases stone formation in genetic hypercalciuric stone-forming rats", *Nephron*, 142(2), 147-158.

Kumar, S. B. N., Kumar, K. G., Srinivasa, V., & Bilal, S. (2012) "A review on urolithiasis", *International Journal of Universal Pharmacy and Life Sciences*, 2(2), 269-280.

Lee, H. P., Leong, D., & Heng, C. T. (2012) "Characterization of kidney stones using thermogravimetric analysis with electron dispersive spectroscopy", *Urological research*, 40, 197-204.

Letavernier, E., Verrier, C., Goussard, F., Perez, J., Huguet, L., Haymann, J. P., ... & Daudon, M. (2016) "Calcium and vitamin D have a synergistic role in a rat model of kidney stone disease", *Kidney International*, 90(4), 809-817.

Li, D. F., Gao, Y. L., Liu, H. C., Huang, X. C., Zhu, R. F., & Zhu, C. T. (2020) "Use of thiazide diuretics for the prevention of recurrent kidney calculi: a systematic review and meta-analysis", *Journal of Translational Medicine*, 18, 1-12.

Littlejohns, T. J., Neal, N. L., Bradbury, K. E., Heers, H., Allen, N. E., & Turney, B. W. (2020) "Fluid intake and dietary factors and the risk of incident kidney stones in UK Biobank: a population-based prospective cohort study", *European urology focus*, 6(4), 752-761.

Lotan, Y., Antonelli, J., Jiménez, I. B., Gharbi, H., Herring, R., Beaver, A., ... & Pearle, M. S. (2017) "The kidney stone and increased water intake trial in steel workers: results from a pilot study", *Urolithiasis*, 45, 177-183.

Malihi, Z., Lawes, C. M., Wu, Z., Huang, Y., Waayer, D., Toop, L., ... & Scragg, R. (2019) "Monthly high-dose vitamin D supplementation does not increase kidney stone risk or serum calcium: results from a randomized controlled trial", *The American journal of clinical nutrition*, 109(6), 1578-1587.

Malihi, Z., Wu, Z., Stewart, A. W., Lawes, C. M., & Scragg, R. (2016) "Hypercalcemia, hypercalciuria, and kidney stones in long-term studies of vitamin D supplementation: a systematic review and meta-analysis", *The American journal of clinical nutrition*, 104(4), 1039-1051.

Manzoor, M. A., Agrawal, A. K., Singh, B., Mujeeburahiman, M., & Rekha, P. D. (2019) “Morphological characteristics and microstructure of kidney stones using synchrotron radiation μ CT reveal the mechanism of crystal growth and aggregation in mixed stones”, *PloS one*, 14(3), e0214003.

Marić, I., Kizivat, T., Smolić, M., Smolić, R., Opačak-Bernardi, T., Šolić, K., ... & Mihaljević, I. (2019) “Lifestyle risk factors and bone mass in recurrent stone-forming patients: a cross-sectional study in 144 subjects”, *Acta Clinica Croatica*, 58(3), 439.

Maruyama, M., Sawada, K. P., Tanaka, Y., Okada, A., Momma, K., Nakamura, M., ... & Mori, Y. (2023) “Quantitative analysis of calcium oxalate monohydrate and dihydrate for elucidating the formation mechanism of calcium oxalate kidney stones”, *Plos one*, 18(3), e0282743.

Massey, L. K., & Sutton, R. A. (2004) “Acute caffeine effects on urine composition and calcium kidney stone risk in calcium stone formers”, *The Journal of urology*, 172(2), 555-558.

Maurice-Esteva, L., Levillain, P., Lacour, B., & Daudon, M. (2000) “Advantage of zero-crossing-point first-derivative spectrophotometry for the quantification of calcium oxalate crystalline phases by infrared spectrophotometry”, *Clinica Chimica Acta*, 298(1-2), 1-11.

Moryama, M. T., Domiki, C., Miyazawa, K., Tanaka, T., & Suzuki, K. (2005) “Effects of oxalate exposure on Madin-Darby canine kidney cells in culture: renal prothrombin fragment-1 mRNA expression”, *Urological research*, 33, 470-475.

Nakazawa, Y., Inoue, S., Nakamura, Y., Iida, Y., Ishigaki, Y., & Miyazawa, K. (2019) “High-salt diet promotes crystal deposition through hypertension in Dahl salt-sensitive rat model”, *International Journal of Urology*, 26(8), 839-846.

Nirumand, M. C., Hajialyani, M., Rahimi, R., Farzaei, M. H., Zingue, S., Nabavi, S. M., & Bishayee, A. (2018) “Dietary plants for the prevention and management of kidney stones: preclinical and clinical evidence and molecular mechanisms”, *International journal of molecular sciences*, 19(3), 765.

Noorafshan, A., Karbalay-Doust, S., & Karimi, F. (2013) “Diosmin reduces calcium oxalate deposition and tissue degeneration in nephrolithiasis in rats: a stereological study”, *Korean journal of urology*, 54(4), 252-257.

Orlando, M. T. D., Kuplich, L., De Souza, D. O., Belich, H., Depianti, J. B., Orlando, C. G. P., ... & Ortiz, R. (2008) “Study of calcium oxalate monohydrate of kidney stones by X-ray diffraction”, *Powder diffraction*, 23(S1), S59-S64.

Park, S. M., Jee, J., Joung, J. Y., Cho, Y. Y., Sohn, S. Y., Jin, S. M., ... & Min, Y. K. (2014) “High dietary sodium intake assessed by 24-hour urine specimen increase urinary calcium excretion and bone resorption marker”, *Journal of bone metabolism*, 21(3), 189-194.

Parmar, M. S. (2004) “Kidney stones”, *Bmj*, 328(7453), 1420-1424.

Pattanasiriwisawa, W., Siritapetawee, J., Patarapaiboolchai, O., & Klysubun, W. (2008) "Structural analysis of sulfur in natural rubber using X-ray absorption near-edge spectroscopy", *Journal of Synchrotron Radiation*, 15(5), 510-513.

Pearle, M. S., Goldfarb, D. S., Assimos, D. G., Curhan, G., Denu-Ciocca, C. J., Matlaga, B. R., ... & White, J. R. (2014) "Medical management of kidney stones: AUA guideline", *The Journal of urology*, 192(2), 316-324.

Peerapen, P., & Thongboonkerd, V. (2016) "Caffeine prevents kidney stone formation by translocation of apical surface annexin A1 crystal-binding protein into cytoplasm: in vitro evidence", *Scientific reports*, 6(1), 38536.

Peerapen, P., & Thongboonkerd, V. (2021) "Kidney stone proteomics: an update and perspectives", *Expert Review of Proteomics*, 18(7), 557-569.

Pineda, C. A., Rodgers, A. L., Prozesky, V. M., & Przybylowicz, W. J. (1995) "Elemental mapping analysis of recurrent calcium oxalate human kidney stones", *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 104(1-4), 351-355.

Pineda-Vargas, C. A., Eisa, M. E. M., & Rodgers, A. L. (2009) "Characterization of human kidney stones using micro-PIXE and RBS: A comparative study between two different populations", *Applied Radiation and Isotopes*, 67(3), 464-469.

Prieto, R. M., Rodriguez, A., Sanchis, P., Morey, M., Fiol, M., Grases, F., ... & Romaguera, D. (2019) "Association of adherence to the Mediterranean diet with urinary factors favoring renal lithiasis: cross-sectional study of overweight individuals with metabolic syndrome", *Nutrients*, 11(8), 1708.

Rabinovich, Y. I., Esayanur, M., Daosukho, S., Byer, K. J., Hassan, E., & Khan, S. R. (2006) "Adhesion force between calcium oxalate monohydrate crystal and kidney epithelial cells and possible relevance for kidney stone formation. *Journal of colloid and interface science*, 300(1), 131-140.

Ratkalkar, V. N., & Kleinman, J. G. (2011) "Mechanisms of stone formation", *Clinical reviews in bone and mineral metabolism*, 9, 187-197.

Recker, P., Beck, B. B., Sikora, P., Göbel, H., Kemper, M. J., Nazco, A., ... & Hoppe, B. (2022) "Chronic liver disease and hepatic calcium-oxalate deposition in patients with primary hyperoxaluria type I", *Scientific Reports*, 12(1), 16725.

Rodriguez, A., Curhan, G. C., Gambaro, G., Taylor, E. N., & Ferraro, P. M. (2020) "Mediterranean diet adherence and risk of incident kidney stones", *The American journal of clinical nutrition*, 111(5), 1100-1106.

ROSE, G. A., & Woodfine, C. (1976) "The thermogravimetric analysis of renal stones (in clinical practice) ", *British Journal of Urology*, 48(6), 403-412.

Ruggenenti, P., Caruso, M. R., Cortinovis, M., Perna, A., Peracchi, T., Giuliano, G. A., ... & Remuzzi, G. (2022) "Fresh lemon juice supplementation for the prevention of

recurrent stones in calcium oxalate nephrolithiasis: A pragmatic, prospective, randomised, open, blinded endpoint (PROBE) trial”, *EClinicalMedicine*, 43.

Šálek, T. (2020) “Extreme diet without calcium may lead to hyperoxaluria and kidney stone recurrence—A case study”, *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 34(12).

Sasaki, Y., Kohjimoto, Y., Iba, A., Matsumura, N., & Hara, I. (2015) “Weight loss intervention reduces the risk of kidney stone formation in a rat model of metabolic syndrome”, *International Journal of Urology*, 22(4), 404-409.

Sassanarakkit, S., Peerapen, P., & Thongboonkerd, V. (2020) “StoneMod: a database for kidney stone modulatory proteins with experimental evidence”, *Scientific Reports*, 10(1), 15109.

Sayer, J. A. (2008) “The genetics of nephrolithiasis”, *Nephron Experimental Nephrology*, 110(2), 37-43.

Schepers, M. S., van der Boom, B. G., Romijn, J. C., Schröderand, F. H., & Verkoelen, C. F. (2002) “Urinary crystallization inhibitors do not prevent crystal binding”, *The Journal of urology*, 167(4), 1844-1847.

Schubert, G. (2006) “Stone analysis”, *Urological research*, 34(2), 146-150.

Seeger, H., Kaelin, A., Ferraro, P. M., Weber, D., Jaeger, P., Ambuehl, P., ... & Mohebbi, N. (2017) “Changes in urinary risk profile after short-term low sodium and low calcium diet in recurrent Swiss kidney stone formers”, *BMC nephrology*, 18(1), 1-9.

Shu, X., Calvert, J. K., Cai, H., Xiang, Y. B., Li, H., Zheng, W., ... & Hsi, R. S. (2019) “Plant and animal protein intake and risk of incident kidney stones: results from the Shanghai Men's and Women's Health Studies”, *The Journal of urology*, 202(6), 1217-1223.

Singh, I. (2008) “Renal geology (quantitative renal stone analysis) by ‘Fourier transform infrared spectroscopy’”. *International urology and nephrology*, 40, 595-602.

Singh, V. K., & Rai, A. K. (2011) “Prospects for laser-induced breakdown spectroscopy for biomedical applications: a review”, *Lasers in medical science*, 26, 673-687.

Singh, V. K., Jaswal, B. B. S., Sharma, J., & Rai, P. K. (2017) “Spectroscopic investigations on kidney stones using Fourier transform infrared and X-ray fluorescence spectrometry”, *X-Ray Spectrometry*, 46(4), 283-291.

Singh, V. K., Rai, A. K., Rai, P. K., & Jindal, P. K. (2009) “Cross-sectional study of kidney stones by laser-induced breakdown spectroscopy”, *Lasers in medical science*, 24, 749-759.

Skolarikos, A., Neisius, A., Petřík, A., Somani, B., Thomas, K., Gambaro, G., ... & Tzelves, L. (2022) “Urolithiasis. In *EAU Guidelines. Edn. presented at the EAU Annual Congress Amsterdam*.

Sofińska-Chmiel, W., Goliszek, M., Drewniak, M., Nowicka, A., Kuśmierz, M., Adamczuk, A., ... & Blicharska, E. (2023) "Chemical Studies of Multicomponent Kidney Stones Using the Modern Advanced Research Methods", **Molecules**, 28(16), 6089.

Sofińska-Chmiel, W., Goliszek, M., Drewniak, M., Nowicka, A., Kuśmierz, M., Adamczuk, A., ... & Blicharska, E. (2023) "Chemical Studies of Multicomponent Kidney Stones Using the Modern Advanced Research Methods", **Molecules**, 28(16), 6089.

Sohgaura, A., & Bigoniya, P. (2017) "A review on epidemiology and etiology of renal stone", **Am J Drug Discov Dev**, 7(2), 54-62.

Sorensen, M. D., Chi, T., Shara, N. M., Wang, H., Hsi, R. S., Orchard, T., ... & Stoller, M. L. (2014) "Activity, energy intake, obesity, and the risk of incident kidney stones in postmenopausal women: a report from the Women's Health Initiative", **Journal of the American Society of Nephrology: JASN**, 25(2), 362.

Sorokin, I., Mamoulakis, C., Miyazawa, K., Rodgers, A., Talati, J., & Lotan, Y. (2017) "Epidemiology of stone disease across the world", **World journal of urology**, 35, 1301-1320.

Srivastava, A., Swain, K. K., Vashisht, B., Aggarwal, P., Mete, U., Acharya, R., ... & Reddy, A. V. R. (2014) "Studies of kidney stones using INAA, EDXRF and XRD techniques", **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, 300, 191-194.

Streit, J., Tran-Ho, L. C., & Konigsberger, E. (1998) "Solubility of the three calcium oxalate hydrates in sodium chloride solutions and urine-like liquors", **Monatshefte für Chemie**, 129(12), 1225-1236.

Sun, Y., Wang, D., & Zhou, Q. (2020) "Caffeine intake and the risk of recurrent kidney stones in adults, an analysis of 2007–2014 National Health and Nutrition Examination Surveys", **European Journal of Nutrition**, 59, 2683-2692.

Taguchi, K., Cho, S. Y., Ng, A. C., Usawachintachit, M., Tan, Y. K., Deng, Y. L., ... & Yasui, T. (2019) "The Urological Association of Asia clinical guideline for urinary stone disease", **International Journal of Urology**, 26(7), 688-709.

Taha, S. A., Shokeir, A. A., Mortada, W. I., Awadalla, A., & Barakat, L. A. (2023) "Effect of Copper and Zinc Ions on Biochemical and Molecular Characteristics of Calcium Oxalate Renal Stones: a Controlled Clinical Study", **Biological Trace Element Research**, 1-13.

Taheri, M., Tavasoli, S., Shokrzadeh, F., Amiri, F. B., & Basiri, A. (2019) "Effect of vitamin D supplementation on 24-hour urine calcium in patients with calcium Urolithiasis and vitamin D deficiency", **International braz j urol**, 45, 340-346.

Tamadon, M. R., Nassaji, M., & Ghorbani, R. (2013) "Cigarette smoking and nephrolithiasis in adult individuals", **Nephro-urology monthly**, 5(1), 702.

Tamošaitytė, S., Hendrixson, V., Želvys, A., Tyla, R., Kučinskienė, Z. A., Jankevičius, F., ... & Šablinskas, V. (2013) "Combined studies of chemical composition of urine

sediments and kidney stones by means of infrared microspectroscopy”, *Journal of Biomedical Optics*, 18(2), 027011-027011.

Tanaka, Y., Maruyama, M., Okada, A., Furukawa, Y., Momma, K., Sugiura, Y., ... & Yasui, T. (2021) “Multicolor imaging of calcium-binding proteins in human kidney stones for elucidating the effects of proteins on crystal growth”, *Scientific reports*, 11(1), 16841.

Tavasoli, S., Alebouyeh, M., Naji, M., Shakiba majd, G., Shabani Nashtaei, M., Broumandnia, N., & Basiri, A. (2020) “Association of intestinal oxalate-degrading bacteria with recurrent calcium kidney stone formation and hyperoxaluria: a case-control study”, *BJU international*, 125(1), 133-143.

Tavichakorntrakool, R., Prasongwattana, V., Sungkeeree, S., Saisud, P., Sribenjalux, P., Pimratana, C., ... & Thongboonkerd, V. (2012) “Extensive characterizations of bacteria isolated from catheterized urine and stone matrices in patients with nephrolithiasis”, *Nephrology Dialysis Transplantation*, 27(11), 4125-4130.

Thamilselvan, V., Menon, M., & Thamilselvan, S. (2014) “Oxalate at physiological urine concentrations induces oxidative injury in renal epithelial cells: effect of α -tocopherol and ascorbic acid”, *BJU international*, 114(1), 140-150.

Tsujihata, M. (2008) “Mechanism of calcium oxalate renal stone formation and renal tubular cell injury”, *International Journal of Urology*, 15(2), 115-120.

Ungjaroenwathana, W., Chiramongkolsiri, T., Dissayabuttra, T., Boonla, C., Prapunwattana, P., Tungsanga, K., & Tosukhowong, P. (2019) “Lime powder regimen supplement alleviates urinary metabolic abnormalities in urolithiasis patients”, *Nephrology*, 24(8), 791-797.

Uvarov, V., Popov, I., Shapur, N., Abdin, T., Gofrit, O. N., Pode, D., & Duvdevani, M. (2011) “X-ray diffraction and SEM study of kidney stones in Israel: quantitative analysis, crystallite size determination, and statistical characterization”, *Environmental geochemistry and health*, 33, 613-622.

Verkoelen, C. F., van Der Boom, B. G., & Romijn, J. C. (2000) “ Identification of hyaluronan as a crystal-binding molecule at the surface of migrating and proliferating MDCK cells”, *Kidney international*, 58(3), 1045-1054.

Wang, H. H. S., Panagides, J., Cahill, D., Bottino, C., Rhodes, E. T., Fleegler, E., ... & Nelson, C. P. (2022) “Dietary risk factors for pediatric kidney stones: a case-control study”, *The Journal of Urology*, 208(2), 434-440.

Warty, Y., Haryanto, F., Haekal, M., & Herman, H. (2020) “A spatial distribution analysis on the deposition mechanism complexity of the organic material of kidney stone”, *Journal of Biomedical Physics & Engineering*, 10(3), 273.

Williams, D. B., Carter, C. B., Williams, D. B., & Carter, C. B. (2009) “Diffraction in TEM”, *Transmission Electron Microscopy: A Textbook for Materials Science*, 197-209.

Xu, H., Zisman, A. L., Coe, F. L., & Worcester, E. M. (2013) “Kidney stones: an update on current pharmacological management and future directions”, *Expert opinion on pharmacotherapy*, 14(4), 435-447.

Yoshioka S, Kusano S, Saito H, inventors Determination of calcium oxalate monohydrate and calcium oxalate dihydrate in living stones by infrared spectroscopy. Japan patent JP3524968B2.1996/4/23.

Yuen, J. W., Gohel, M. D. I., Poon, N. W., Shum, D. K., Tam, P. C., & Au, D. W. (2010) “The initial and subsequent inflammatory events during calcium oxalate lithiasis”, *Clinica Chimica Acta*, 411(15-16), 1018-1026.

Zhou, W., Apkarian, R., Wang, Z. L., & Joy, D. (2007) “Fundamentals of scanning electron microscopy (SEM)”, *Scanning Microscopy for Nanotechnology: Techniques and Applications*, 1-40.

Zuckerman, J. M., & Assimos, D. G. (2009) “Hypocitraturia: pathophysiology and medical management”, *Reviews in urology*, 11(3), 134.