

Estudio estructural y morfológico de piedras de riñón en pacientes de la ciudad de León, Guanajuato

Angélica Hernández Rayas¹, Andrea Ceja Fernández¹, Christian Gómez Solís¹,
Martha A. Hernández González², Medrano Sánchez Javier²,
Juan Luis Pichardo Molina³, Teodoro Córdova Fraga¹

¹ Universidad de Guanajuato,
División de Ciencias e Ingenierías,
México

² UMAE Specialty Hospital # 1,
México

³ Optics Research Center,
México

theo@fisica.ugto.mx

Resumen. Actualmente, los cálculos renales es uno de los trastornos más comunes en los seres humanos, se presenta en un 10% de la población mexicana. Los riñones son responsables de la eliminación de sustancias insolubles, que pueden ser alteradas por diferentes factores biológicos, así como variables sociodemográficas, los cuales generan un crecimiento de cristales, los cuales posteriormente se convierten en cálculos renales. En el presente trabajo, se estudió la estructura cristalina y morfología de los cálculos renales presentes en pacientes, las piedras fueron proporcionados por el Hospital Especial de la UMAE 1 Bajío, León, Gto. Los cálculos renales fueron analizados por las técnicas de difracción de rayos X (DRX), microscopía electrónica de barrido (MEB), así como por espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR). De acuerdo con los resultados se determinó que las condiciones médicas del paciente son un factor importante en la formación de los cristales y dichos factores influyen directamente en la estructura cristalina y la morfología de la piedra. Asimismo, se determinó que las piedras presentan diferentes fases cristalinas del oxalato de calcio, así como una morfología en forma de foliolos y partículas redondas.

Palabras clave: DRX, FTIR, piedras de riñón, CaOx.

Structural and Morphological Study of Kidney Stones in Patients from the City of León, Guanajuato

Abstract. Currently, kidney stones is one of the most common disorders in humans, it occurs in 10% of the Mexican population. The kidneys are responsible for the elimination of insoluble substances, which can be altered by different

biological factors, as well as sociodemographic variables, which generate a growth of crystals, which later become kidney stones. In the present work, the crystalline structure and morphology of kidney stones present in patients were studied; the stones were provided by the Special Hospital of the UMAE 1 Bajío, León, Gto. Renal stones were analyzed by X-ray diffraction (XRD), scanning electron microscopy (SEM), as well as Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). According to the results, it was determined that the patient's medical conditions are an important factor in the formation of the crystals and these factors directly influence the crystalline structure and the morphology of the stone. Likewise, it was determined that the stones present different crystalline phases of calcium oxalate, as well as a morphology in the form of leaflets and round particles.

Keywords: DRX, FTIR, kidney stones, CaOx.

1. Introducción

La patología litiasis renal (RL), también conocida como nefrolitiasis, es una enfermedad que se manifiesta por la presencia de piedras (cálculos) en el interior de los riñones o en las vías urinarias. Es un problema que puede desarrollarse en cualquier individuo que se ha incrementado en México en las últimas décadas, el cambio climático favorece a su crecimiento, por lo que en algunos grupos poblacionales son más propensos desarrollar esta enfermedad, identificando algunos factores como son la edad, el género, localización geográfica y la exposición a altas temperaturas. [1] La orina contiene sustancias como: calcio, oxalato, fosfato, carbonato, cistina y ácido úrico, que, en grandes cantidades pueden cristalizarse y formar cálculos renales [2]. La litiasis renal se desarrolla presentando modificaciones en las composiciones químicas y etiologías, que por diferentes factores influyen en los grupos de cálculos renales y logran alcanzar un nivel de distribución y crecimiento, en el cual es posible la cristalización [3]. Los cálculos renales pueden variar en tamaño y dependiendo del tamaño es la permanencia en el riñón, la cual puede presentar un desencadenamiento de infecciones urinarias e insuficiencia renal principalmente, nefro calcinosis y otras nefropatías [4]. Los cálculos renales suelen ser de calcio, y con menor frecuencia de magnesio, de ácido úrico o de cistina, en dependencia de las enfermedades o causas a los que se asocian [5]. En varios trabajos se reporta que el proceso de biomineralización patológica que se genera de la mezcla de dos o más componentes en el Sistema urinario generan los cálculos renales [6].

En la enfermedad de cálculos renales, el déficit de cristalización inhibitoria juega un papel importante junto con los niveles sobresaturados de diferentes sales, promotores e inhibidores de la cristalización.

El proceso de cristalización de componentes de la orina sobresaturadas y el establecimiento de concreciones sólidas puede ser modificado por la actividad de promotores e inhibidores y por algunos factores morfoanatómicos, dietéticos y ambientales [7]. Actualmente para realizar el análisis de los cálculos renales existen diversas técnicas físicas, químicas e instrumentos para la identificación, composición y su clasificación, que funge como complemento para el diagnóstico, así como medidas preventivas efectivas en el control médico, adecuado con tratamiento oportuno y disminuya la necesidad de someter al paciente a repetidos procedimientos quirúrgicos

[8]. De las técnicas más comúnmente utilizadas son: la Difracción de rayos X (DRX), Fluorescencia de Rayos X (FDX), microscopia electrónica de barrido (SEM), la espectroscopia infrarroja (FITR) y Espectroscopia Raman [9].

En algunos estudios se han reportado que algunos elementos principales y traza en el inicio de la cristalización de los cálculos, incluso como núcleo o nido para la formación del cálculo o simplemente como un contaminante de la estructura del cálculo [10]. Por lo tanto, en este trabajo es primordial el realizar el análisis estructural y morfológico de muestras de cálculos renales y resumir los aspectos importantes con cada técnica para tener una clasificación de los cálculos renales y su correlación clínica con el paciente, y así aportar información que permita establecer una clasificación del cálculo para uso clínico y de diagnóstico.

2. Métodos y materiales

Las piedras de riñón se obtuvieron de pacientes hospitalizados en la Unidad Médica de Alta Especialidad (UMAE) del IMSS #1 del Hospital Especializado del Bajío, León, Gto entre el 04 de marzo y el 04 de julio de 2019. Las piedras de riñón se obtuvieron mediante nefrolitotomía percutánea (NLPC). Las muestras de cálculos renales secados a temperatura ambiente 31 °, se molieron en un mortero de ágata para obtener un polvo fino. El período entre la recolección y el análisis mediante las técnicas de Difracción de rayos (DRX), Fluorescencia de Rayos X (XDF), la espectroscopia infrarroja (FITR) y Espectroscopia Raman se utilizan para clasificar tipos de piedras de riñón.

2.1. Caracterización

La estructura cristalina de las piedras se determinó mediante difracción de rayos X (DRX) utilizando un equipo D2 PHASER de la marca Bruker. Las piedras fueron trituradas en mortero de ágata con un tamaño máximo de 325µm y se colocaron en porta muestra en un rango de 2θ de 10 a 90 °. Para el análisis de Fluorescencia de rayos se utilizó un espectrómetro Épsilon 3XLE de la marca Panalytica para determinar la composición elemental de las piedras de riñón y sus cambios con los diferentes pacientes. La preparación de las muestras fue en polvo, previamente molidas, y se depositan en un porta muestras para el análisis XRF. Los análisis de espectroscopia FTIR fue realizada utilizando el espectrómetro Cary 670 FTIR de la marca Agilent, se realizó un análisis en el rango de frecuencia 400 -4000 cm^{-1} . Asimismo, se realizó el estudio de espectroscopía Raman en un equipo Raman DXR2 Thermo Scientific con un rango espectral de 200 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} , y fuente de excitación láser de diodo de 785 nm con potencia del láser es de 20 mW, un lente objetivo de microscopio de 20x. SEM se realizó en un JEOL JSM 649LV con un voltaje de aceleración máximo de 200 kV y una resolución de red de 0,19.

3. Resultados

En la Figura 1 se presentas los patrones de DRX de las piedras de los 3 pacientes, se puede observar la presencia de oxalato de calcio como la fase predominante en cada

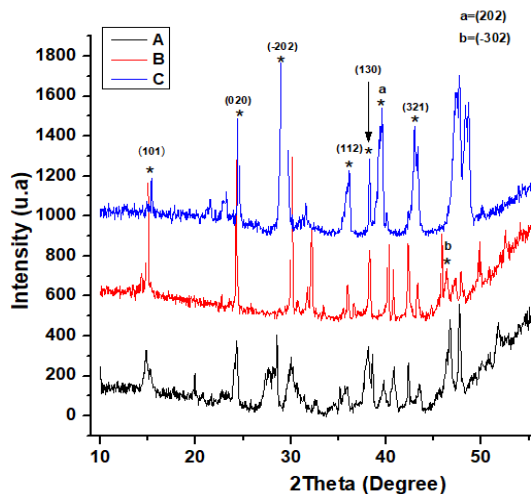


Fig. 1: Espectros de Difracción de rayos X de 3 pacientes representativos de cálculos de oxalato en piedras de riñón.

una de las piedras de los diferentes pacientes en los ángulos (101), (020), (-202), (112), (130), (202), (321) y (303) planos de cristal oxalato de calcio con referencia al número de tarjeta 21-0838 y 20-0231.

En el plano (101) contienen moléculas de agua en baja concentración, lo que podría indicar la deshidratación del Piedra. Los espectros presentan un comportamiento similar y la presencia de otros picos, los cuales indican que el crecimiento de cristales en otros planos preferenciales y la reducción de los picos característicos del oxalato en cada paciente es diferente a pesar de que pertenecen a la misma región, así como la alimentación y algunos factores anatómicos o metabólicos pueden favorecer la formación de piedras de riñón.

El espectro de FTIR de los cristales de oxalato de calcio se muestra en la Figura 2 presentan picos de absorción en 3477–3047 cm^{-1} se deben a las absorciones simétricas y asimétricas del estiramiento O-H, en 20 cm^{-1} y 1320 cm^{-1} pueden deberse a la vibración de C=O y C-O. La banda de absorción a 885 cm^{-1} se debe al modo de estiramiento C – C. Las bandas de 662 y 781 cm^{-1} se deben a la flexión O-H fuera del plano y al modo de flexión C-H respectivamente y la banda de 517 cm^{-1} surge debido a la flexión en el plano de O-C-O. La formación discreta de las dos bandas en 780 y 517 cm^{-1} es importante para distinguir COM. El grupo PO4 generalmente tiene un rango de absorción de 1000- 1100 cm^{-1} . [22][15]

En comparación con la tres piedras de los pacientes (A, B, C) en Figura 4 presenta picos de absorción en la banda ancha a 3000 cm^{-1} se debe a la presencia del grupo O-H y posiblemente a la deshidratación del Oxalato de calcio, en la banda de 1670 y 1348 cm^{-1} se muestra la presencia de vibraciones de estiramiento de C=O y C-O. Las bandas de carbonato a 850, 1414 cm^{-1} son características de este tipo de fosfato, y podría tener una reestructura a apatita, al sustituir los iones de CO_3^{2-} pueden sustituir a los iones PO_4^{3-} . Por otra parte, se analizaron las imágenes del equipo SEM con el que se determina la morfología y la estructura cristalina de los nano cristales urinarios de los diferentes pacientes.

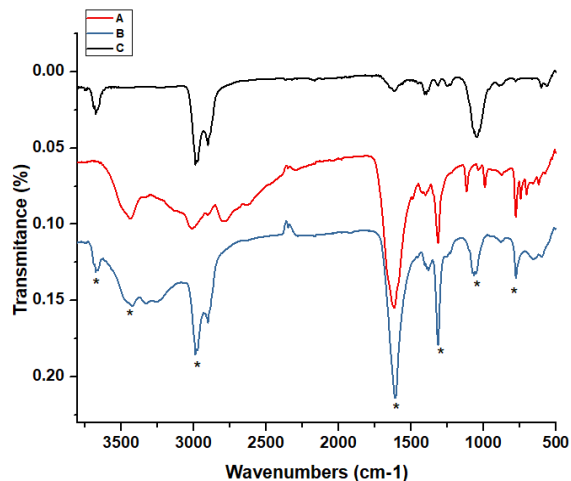


Fig. 2: Espectro FTIR pertenecientes a piedras de riñón de pacientes.

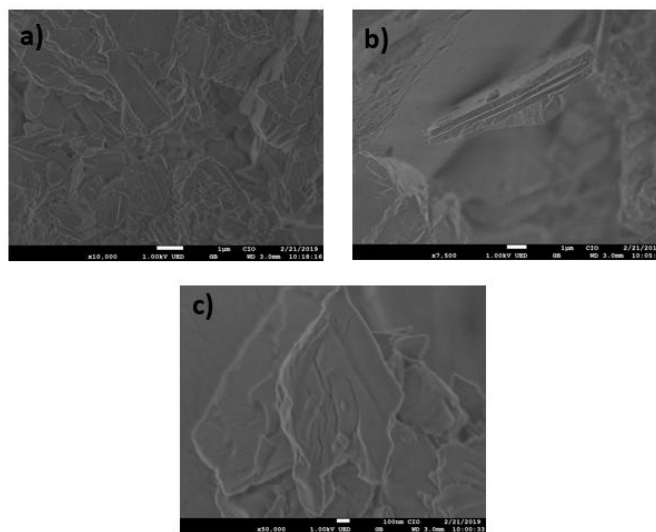


Fig. 3. Imágenes SEM a) Paciente A, b) Paciente B y c) Paciente C.

En la Figura 3, presenta la morfología hexagonal y bipirámide, por lo que el crecimiento de las fases de oxalato de calcio y la orientación preferencial concuerdan a las intensidades en los espectros de DXR en cada paciente. La Figura 3a, se presenta la morfología irregular y aglomeraciones de estructuras piramidales, así como diferentes ordenamientos y el crecimiento en otros planos y decremento en los planos característicos del oxalato, en comparación con la Figura 3b, correspondiente al Paciente B, se muestra un crecimiento del cristal más uniforme hexagonal en forma escalonada, presentando las fases del oxalato de calcio. En la Figura 3c del Paciente C,

la estructura presenta la formación de escalone debido a la disolución son algunos de los defectos superficiales.

De acuerdo a los resultados de fluorescencia de rayos X se muestran los principales elementos de la capa superficial de las muestras de orina del paciente (A) con Cl (41,34%), K (31,053%), Ca (12,24%), P (5,48%), S (5,16%) y Si (1,92%), están presentes en altas cantidades, mientras que se encontraron bajas concentraciones de Ti (0,99%), en el paciente (B) con Cl (13,9 %), K (7,34%), Ca (26,87%), P (33,33%), Si (12,061%) y bajas concentraciones de Al (6,23%) y no presentan elementos de S y Ti.

En el paciente (C) tiene altas cantidades de Ti (58,68 %), Ba (7,34%), K (5,01%), Cl (7,32%), P (6,61%), S (5,25%), Si (2,50%) y bajas concentraciones de Al (0,926%) y no presentan elementos de Ca.

Por el contrario, los principales elementos encontrados en muestras en polvo en el paciente (A) con Ca (94,28%), P (4,75%), Si (0,33%) y Al (0,21%), están presentes en altas cantidades, mientras que se encontraron bajas concentraciones de Ti (0,14%) y Mg (0,15 %) que no se presentan en las muestras líquidas de orina, mientras que en el paciente (B) Ca (82,52 %), P (9,82%) y Si (0,49 %), y bajas concentraciones de Al (0,18%) y Ti (0,67%). Para el paciente (C) Ca (91,09 %), P (3,096%) y Si (0,735%), y bajas concentraciones de Al (0,129%) y Ti (0,125 %), por lo que en los pacientes B y C no presentan elementos de Mg en comparación con el paciente A.

4. Discusión

Los espectros FTIR (Figura 2) y DRX (Figura 1) de cristalitas presentan las intensidades en los planos de difracción más fuertes del fosfato de Calcio (CaP) respectivamente, pues el crecimiento de cada cristal depende del medio por lo que presentan nuevos planos y fases presentes que comparado con el análisis XFR muestra la presencia de los elementos Cl, Ca y P que son los componentes principales de los nanocristalinos en pacientes con piedras de riñón, y en bajas concentraciones de Mg, Al y Ti lo cual puede atribuirse a la diferencia entre la formación de la estructura de cristalitas y, por otro lado, a los contenidos de Ca y P.

Con las imágenes de SEM se realizó la correlación de la formación estructural cristalina de cada paciente es diferente debido a los elementos que contiene para la morfología de estos.

5. Conclusiones

Que los factores ambientales y genéticos de los diferentes pacientes favorecen al crecimiento de los cristales de oxalato de calcio, ya que estos factores pueden ser determinantes debido a la alimentación que reciben. Asimismo, se puede observar que las piedras presentan características similares en el crecimiento de los cristales, pero con morfologías diferentes, además, presentan el mismo tipo de elementos en cada una de ellas.

Agradecimientos. Juan Luis Pichardo Molina agradece el apoyo del Centro de Investigaciones en Óptica. Los autores también aprecian el trabajo técnico de C Albor

del Centro de Investigaciones en Óptica en León, México, para el análisis SEM y DRX. Los autores agradecen a la UMAE Hospital Especializado # 1 Centro Médico Nacional del Bajío por las muestras proporcionadas, también a la Universidad de Guanajuato por el apoyo parcial con el proyecto DAIP-2019/59023.

References

1. Cuidateplus: Litiasis Renal: Síntomas, Tratamientos, Causas e Información. <https://cuidateplus.marca.com/enfermedades/urologicas/litiasis-renal.html> (2019)
2. Meteored: Clima en León. El tiempo a 14 días Meteored. https://www.meteored.mx/clima_Leon-America+Norte-Mexico-Guanajuato--1-22384.html (2019)
3. Boix-Gras, C., López-Torres, J., Álvarez-Dumont, L., Vázquez-Céspedes, M.C., Romero-Herreros, E., Jiménez-López, M.D., López-Carrasco, J. L.: Litiasis Renal. *Rev. Clínica Med. Fam.*, 2(1), pp. 32–38 (2007)
4. Vega, M., Vito, M.: Cálculos renales o nefrolitiasis. *Rev. Actual. Clínica*, 11, pp. 539–543 (2011)
5. Frochot, V., Daudon, M.: Clinical value of crystalluria and quantitative morphoconstitutional analysis of urinary calculi. *Int. J. Surg.*, 36, pp. 624–632 (2016)
6. Daudon, M., Bazin, D.C.: Application of physical methods to kidney stones and Randall's plaque characterization. *Urolithiasis*, London: Springer London, pp. 683–707 (2012)
7. Moe, O.W.: Kidney stones: pathophysiology and medical management. *Lancet*, 367(9507), pp. 333–344 (2006)
8. Freixedas, F.G., Visus, A.C., Bauza, A.C., Ferragut, L.G., Isern, J.G.M.: Estudio de la composición y posibles causas de la formación de cálculos renales. *Rev. la Soc. Esp. Quim. Clin.*, 17(1), pp. 19–24 (1998)
9. Vila, K.P.B.R.: Estructura de los cálculos renales. *Metodología de estudio*. 22, pp. 19–22 (1996)
10. Mandel, I., Mandel, N.: Structure and compositional analysis of kidney stones. In: *Urinary Stone Disease*, Totowa, NJ: Humana Press, pp. 69–81 (2007)
11. Zapata-González, J.A., Robles-Scott, M.A., Camacho-Castro, J.B., García, S.M., Reyna-Bulnes, A., Maltos-Gutierrez, R.: Nefrolitotomía percutánea con técnica miniperc en posición supina: experiencia inicial. *Rev. Mex. Urol.*, 75(1), pp. 20–24 (2015)
12. Fernández-García, A., et al.: *Archivos españoles de urología*, 62(4), Editorial Garsi (2009)
13. Kanchana, G., Sundaramoorthi, P., Jeyanthi, G.P.: Bio-chemical analysis and FTIR-spectral studies of artificially removed renal stone mineral constituents. *J. Miner. Mater. Charact. Eng.* (2009)
14. Loubser, M., Verry, S.: Combining XRF and XRD analyses and sample preparation to solve mineralogical problems. *South African J. Geol.*, 111(2–3), pp. 229–238 (2008)
15. Muhammed Shameem, K. M. et al.: Laser-induced breakdown spectroscopy-Raman: An effective complementary approach to analyze renal-calculi. *J. Biophotonics*, vol. 11, no. 6, p. e201700271, (2018).
16. Krafft, C., Popp, J.: The many facets of Raman spectroscopy for biomedical analysis. *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 407, no. 3, pp. 699–717, Jan. (2015)
17. Ember, K. J. I. et al.: Raman spectroscopy and regenerative medicine: a review. *NPJ Regen. Med.*, vol. 2, p. 12 (2017)
18. Cui, X., Zhao, Z., Zhang, G., Chen, S., Zhao, Y., Lu, J.: Analysis and classification of kidney stones based on Raman spectroscopy. *Biomed. Opt. Express*, vol. 9, no. 9, pp. 4175–4183 (2018)
19. Alberto, F., Ponce, L.: *Universidad de Chile. An. la Univ. Chile*, no. 97–98 (1955)