

# Estudio de cálculos renales por espectroscopía de infrarrojo

## *Renal stone characterization by infrared spectroscopy*

► José Rodolfo Guerra-López<sup>1\*</sup>, Jorge Alberto Güida<sup>1\*,\*\*</sup>, Carlos Omar Della Védova<sup>1\*\*,\*\*\*</sup>, Roberto Ricardo García<sup>2\*</sup>

1. Dr. en Ciencias Aplicadas.  
2. Lic. en Bioquímica.

\* Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján, rutas 5 y 7, Luján, Argentina.

\*\* CEQUINOR.

\*\*\* LaSelSiC Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas y Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de la Plata, CC 962, 1900, La Plata, Argentina.

### Resumen

En este trabajo se muestra la potencialidad de la espectroscopia de infrarrojo para distinguir los componentes de cálculos renales. Los cálculos estudiados están compuestos principalmente por mezclas de oxalatos y fosfatos y por mezclas de oxalatos. Especial atención se centró en los cálculos del tipo oxalato por estar formados en general por más de una fase, siendo ésta una dificultad en la detección por los métodos tradicionales. Para identificar mejor las fases que componen estas mezclas se recurrió al método de la segunda derivada del espectro de infrarrojo. El análisis del espectro infrarrojo y la aplicación de la derivada segunda, le permite al urólogo contar con las herramientas necesarias para determinar la composición del cálculo y a partir de la interpretación correspondiente, ofrecer al paciente un correcto diagnóstico y tratamiento. Un importante aspecto de este estudio, es la posibilidad de establecer algunos de los posibles factores etiológicos relacionados con la formación de estos sistemas.

**Palabras clave:** espectroscopia infrarroja \* segunda derivada \* wedellita \* wewellita \* fosfatos de calcio \* carbonatoapatita \* cálculos urinarios \* condiciones fisiopatológicas

### Summary

*This work confirms that infrared spectroscopy is a powerful technique to detect renal calculi components. The studied calculi are composed mainly of oxalate and phosphate mixture as well as oxalate mixture. Special interest was centered in oxalate calculi because of the likely presence of different phases, which should be difficult to detect by other techniques. To improve the identification of the different phases present in calculi the second derivative spectra were used. The FTIR spectroscopic together with the second derivative analysis allows the urologist to have a good method for calculi component determinations. Consequently, in accordance with its composition correctly correlated with specific pathophysiological conditions it provides the urologist with important information about calculus treatment. The objective of this paper is to contribute to establish such relation.*

**Keywords:** infrared spectroscopy \* second derivative spectra \* wedellite \* wewellite, calcium phosphate \* carbonate apatite \* urinary calculi \* pathological conditions

**Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana**

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

ISSN 1851-6114 en línea

## Introducción

Los cálculos renales son sólidos de pequeño tamaño que precipitan en el sistema urinario debido a algún desorden metabólico. La composición de los mismos es, en algunos casos, el único indicio para encontrar el origen de ese desorden (1-4), de aquí la importancia de realizar estudios que permitan esclarecer las fases que lo componen.

Los minerales encontrados en los cálculos renales se suelen clasificar en dos grandes grupos: compuestos orgánicos e inorgánicos. Los orgánicos, a su vez, pueden ser divididos en dos subgrupos. Uno contiene ácido úrico (anhidro o dihidratado), sales de ácido úrico y el otro contiene el aminoácido cistina. Los compuestos inorgánicos, de igual forma, pueden clasificarse en dos grupos. El primero, formado por sales de oxalato de calcio (wewellitita y wedellitita); el segundo, por diferentes fosfatos de calcio entre los que se encuentra hidroxapatita, fosfato octacálcico, brushita, y el fosfato de amonio y magnesio (tipo estruvita) (5-9). Debido a los diversos compuestos o mezclas que pueden conformar un cálculo renal, los métodos de análisis que se utilicen deben ser capaces de distinguir los distintos componentes. La espectroscopia infrarroja es un excelente método para tales estudios debido a la rapidez y capacidad para caracterizar tanto compuestos inorgánicos como orgánicos. Una correcta utilización de la misma provee información detallada de los distintos componentes del cálculo, facilitando el diagnóstico y consecuentemente un tratamiento más eficiente y confiable (10-12).

Las ventajas de usar la espectroscopia infrarroja para determinar cualitativamente los componentes de cálculos renales, respecto de los métodos de análisis tradicionales, han sido discutidas en diferentes fuentes bibliográficas (1-5) (10) (11) (13)]. La potencialidad de la espectroscopia infrarroja se ve incrementada por el uso del método de la derivada segunda de su espectro, ya que éste permite distinguir, por ejemplo, los diferentes oxalatos presentes en los cálculos y así mejorar el diagnóstico clínico.

En este trabajo se estudia la composición de diferentes muestras de cálculos renales por espectroscopia de infrarroja y se aplica el método de la derivada segunda para resolver mezclas de oxalatos. Este método ha sido empleado con éxito en diferentes estudios vibracionales [14], sin embargo hasta el momento no se ha reportado ningún trabajo de aplicación al estudio de cálculos renales. Un importante aspecto de este estudio es la posibilidad de establecer algunos de los posibles factores fisiopatológicos relacionados con la formación de estos sistemas.

## Materiales y Métodos

Las muestras estudiadas se obtuvieron de 20 pacientes cuyas edades oscilaban entre 20 y 60 años. Los cálculos

se obtuvieron, casi en su totalidad, a partir de intervenciones quirúrgicas rutinarias de riñón realizadas en hospitales de las comunidades de San Antonio de Areco y Luján, Provincia de Buenos Aires, Argentina. Las muestras para las medidas de infrarrojo se prepararon moliendo en un mortero de ágata aproximadamente 1 mg de cálculo con 30 mg de KBr (calidad espectroscópica). Se compactó el sólido obtenido en una prensa hidráulica para formar una pastilla transparente al infrarrojo. Las mediciones de infrarrojo se llevaron a cabo en el CEQUINOR, (Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina) en un espectrofotómetro (Bruker 66, Ettlingen, Alemania) en la región espectral de 4000-400  $\text{cm}^{-1}$ , con resolución de 4  $\text{cm}^{-1}$ .

## Resultados

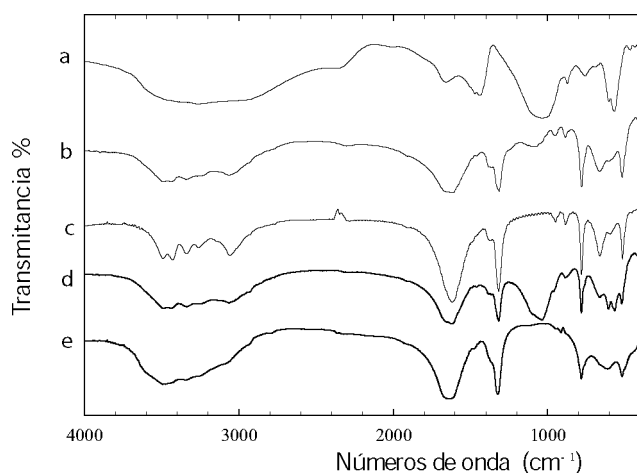
En la Figura 1 se comparan los espectros infrarrojos de diferentes cálculos con el del oxalato de calcio (c, wewellitita). Se utilizó como espectro de comparación una fase wewellitita en lugar de la wedellitita por ser el constituyente principal del cálculo urinario (5-7) (15) (16).

Como se observa en esa figura existe una marcada coincidencia en la posición de la mayoría de las bandas como en las intensidades relativas de las mismas, para los espectros b, c, d, e. Las bandas correspondientes a esos espectros son las debidas a vibraciones de oxalato de calcio o mezclas con otros componentes. Sin embargo, en el espectro a, la posición y forma de las bandas difiere de los anteriores, porque este cálculo está compuesto principalmente de un fosfato del tipo estruvita ( $\text{Mg}(\text{NH}_4)\text{PO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ ). En consecuencia, en la Figura 1 se demuestra cómo puede distinguirse fácilmente la composición de cálculos renales, reflejando la potencialidad de la espectroscopia de infrarrojo.

En los espectros b y d se observan bandas del grupo fosfato, en la región de 1100-1000  $\text{cm}^{-1}$ , que corresponden a una fase apatítica. La aparición de esas bandas demuestra la presencia de al menos dos fases en esos cálculos.

La banda en 1074  $\text{cm}^{-1}$ , por si sola da escasa información acerca del tipo de fosfato de calcio presente, pero la presencia de bandas en 1457 y 862  $\text{cm}^{-1}$  permite determinar que en realidad se trata de una carbonatoapatita de calcio. Ambas bandas son evidencias de la presencia de carbonato en la muestra (16) (17). La primera señal se origina en la vibración de estiramiento  $\nu(\text{CO})$  del grupo carbonato ( $\nu_3$ ) y la segunda en la deformación angular de este anión ( $\nu_2$ ). En los casos en que los cálculos estén formados por mezclas de oxalatos y carbonatoapatitas, el perfil de la banda de estiramiento simétricos del carbonato en 1457  $\text{cm}^{-1}$  se ve afectado por el ancho de la señal de las deformaciones angulares del agua, la cual solapa cualquier banda que

aparezca a números de onda superiores a  $1480\text{ cm}^{-1}$ . Este solapamiento dificulta determinar con exactitud, en esta región del espectro, la posición de las bandas correspondientes a los modos de estiramiento de los grupos carbonatos en la estructura apatítica.



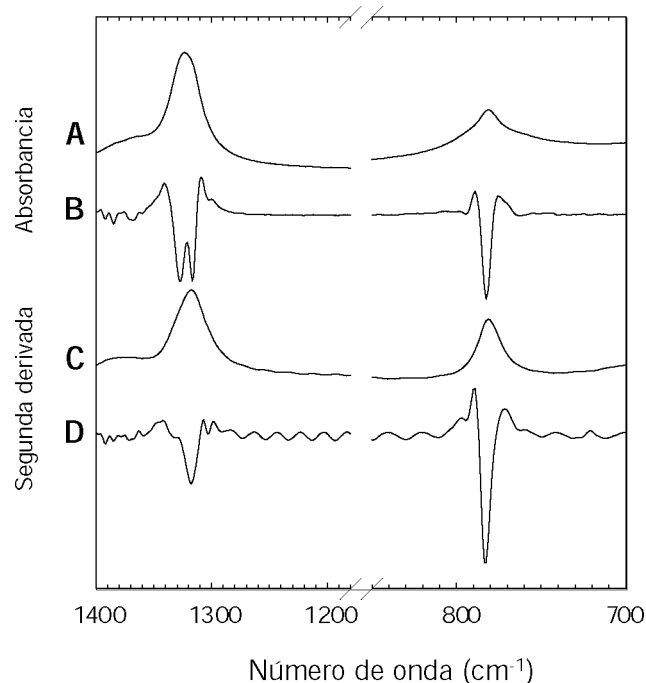
**Figura 1.** Espectro IR de diferentes muestras de cálculos renales. *a* corresponde a una muestra de cálculo renal que no contiene oxalato. *b*, *d* y *e* corresponden a muestras de oxalatos. *c* corresponde al testigo de oxalato.

En el espectro *e* se observa una escasa definición de las bandas en la región  $3800\text{--}2600\text{ cm}^{-1}$  en comparación con los otros espectros. En esta zona del espectro aparecen los estiramientos OH (simétricos y antisimétricos) de las bandas de agua y los estiramientos OH de los grupos hidroxilo que se observarán sólo en el caso de tener presente una fase apatítica pura. Estos grupos OH<sup>-</sup> aparecen en el extremo superior de las bandas de estiramiento OH de las bandas de agua, a alrededor de  $3572\text{ cm}^{-1}$ .

Para determinar si el espectro *e* corresponde a una mezcla de oxalatos o a una fase weddellita se recurrirá más adelante al uso de la segunda derivada. Los aniones oxalato no presentan bandas en la región  $1100\text{--}1030\text{ cm}^{-1}$ , es decir que, como se mencionó anteriormente, si aparecen bandas en esa región corresponderán a la presencia de una fase apatítica, debido a modos de estiramiento antisimétricos de los grupos fosfato. En consecuencia, las muestras correspondientes a los espectros *b* y *d* están compuestas por mezclas de fosfatos y oxalatos en diferentes proporciones.

El espectro de la muestra *e* (Figura 1) fue analizado por el método de la derivada segunda para determinar si contiene más de un componente de oxalato. En la Figura 2 se muestran simultáneamente una región de los espectros de infrarrojo del cálculo *e* (Figura 1) y del oxalato de calcio (wewellita) y las derivadas segundas correspondientes. Cabe remarcar la similitud de los espectros mostrados en esa figura. En las derivadas se-

gundas (**B**, **D**), sin embargo, puede observarse una notable diferencia en la región de  $1320\text{ cm}^{-1}$ . La aparición de un doble pico (de intensidades similares) en la segunda derivada **B**, demuestra que el cálculo correspondiente contiene mezcla de oxalatos de aproximadamente igual concentración. Los picos centrados en  $1326$  y  $1317\text{ cm}^{-1}$  corresponden a las fases de oxalato de calcio weddellita y wewellita, respectivamente. La resolución de dos picos en la derivada segunda del espectro del cálculo renal *e* (Figura 1) demuestra la potencialidad de la técnica para determinar componentes muy parecidos en cálculos renales.



**Figura 2.** Cálculo de espectros de infrarrojo en absorbancia de: **A**) Cálculo *e* de Figura 1; **C**) Oxalato de calcio (wewellita). **B**) y **D**) Derivadas segundas de los espectros cálculo *e* y del oxalato de calcio respectivamente.

## Discusión y Conclusiones

En el presente trabajo se analizaron, por espectroscopia de infrarrojo, diferentes muestras de cálculos renales compuestos principalmente por oxalatos y fosfatos de calcio.

Por simple inspección de un espectro de infrarrojo (Figura 1) resulta sencillo determinar la composición en un cálculo renal. Pero en el caso de mezclas de oxalato, como los espectros son tan similares, no es posible determinar con precisión los componentes de las muestras, especialmente en los casos en que uno sea el principal constituyente [1-8]. Cuando se está ante este tipo de muestras, puede recurrirse al método

de la segunda derivada para su resolución. En estos casos, la región del espectro más adecuada para analizar es la comprendida entre 1325-1310  $\text{cm}^{-1}$ , porque en ambos compuestos aparece una banda muy aguda correspondiente a modos de estiramiento O-C-O. Los resultados del estudio vibracional muestran que la señal presente en el espectro infrarrojo, en esta región, puede resolverse, después de la aplicación de la segunda derivada, en dos picos correspondientes a cada uno de los componentes de la mezcla.

Como se demuestra en este trabajo el uso de la derivada segunda mejora las posibilidades analíticas de la espectroscopia de infrarrojo. Esta técnica le permite al urólogo contar con una herramienta poderosa para determinar la composición del cálculo y a partir de la interpretación correspondiente ofrecer al paciente un correcto diagnóstico y tratamiento.

Finalmente, en la Tabla I se comparan los minerales más comunes presentes en los cálculos renales y su factor fisiopatológico. Este trabajo se realizó con la idea de dar un panorama general de la relación que existe entre la patología, la estructura y la composición de los cálculos renales. Por esta razón, se incluyeron en esta tabla cálculos formados en una sola fase de oxalato y cuatro ejemplos representativos de cálculos renales, que no fueron estudiados aquí.

#### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al CONICET, CIC, ANPCYT, Fundación Antorchas, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP y UNLu de la Argentina por el apoyo financiero y logístico y al DAAD de Alemania que generosamente financia el Programa Regional de Química.

#### CORRESPONDENCIA

DR. JOSÉ RODOLFO GUERRA-LÓPEZ  
Departamento de Ciencias Básicas  
Universidad Nacional de Luján  
Rutas 5 y 7  
6700 LUJÁN – Buenos Aires – Argentina

#### Referencias bibliográficas

1. Vergauwe DAG, Verbeeck RMH, Oosterlink W. Analysis of urinary calculi. *Acta Urol Belg* 1994; 62 ( 2): 5-13.
2. Daudon M, Jungers P. Clinical value of crystalluria and quantitative morphoconstititional analysis of urinary calculi. *Nephron Physiol* 2004; 98: 31-6.
3. Rieu P. Infection lithiasis. *Ann Urol* 2005; 39: 16-29.
4. Bazin D, Chevallier P, Matzen G, Jungers P, Daudon M. Heavy elements in urinary stones. *Urol Res* 2007; 35: 179-84.
5. Hesse A, Heimbach D. Causes of phosphate stone formation and the importance of metaphylaxis by urinary acidification: a review. *World J Urol* 1999; 17: 308-15.
6. Abboud IA. Concentration effect of trace metals in Jordanian patients of urinary calculi. *Environ Geochem Health* 2008; 30: 11-20.
7. Kuzmanovski I, Trpkovska M, Šoptrajanov B, Stefov V. Determination of the composition of human urinary calculi composed of whewellite, weddellite and carbonate apatite using artificial neural networks. *Anal Chim Acta* 2003; 491: 211-8.
8. Grases F, Costa-Bauza A, Ramis M, Montesinos V, Conte A. Simple classification of renal calculi closely related to their micromorphology and etiology. *Clin Chim Acta* 2002; 322: 29-36.

Tabla. I. Relación entre los tipos de minerales presente en los cálculos y su factor fisiopatológico

Composición	Principales condiciones etiológicas
Wewellita (oxalato de calcio monohidratado)	Hiperocalcemia (puede incluir o no hiperuricosuria)
Oxalato de calcio dihidratado (Weddellite)	Hipercalcemia, en algunos casos puede presentarse una hiperocalcemia
Muestra b: Oxalato de calcio monohidratado + carbonatoapatita. Oxalato fase mayoritaria	Hiperocalcemia, más infección con organismos no productores de ureasa
Muestra d: Oxalato de calcio monohidratado + Oxalato de calcio dihidratado	Hipercalcemia e hiperocalcemia
Muestra e: Oxalato de calcio monohidratado + Oxalato de calcio dihidratado. No se puede concluir que el oxalato es la fase mayoritaria	Hipercalcemia e hiperocalcemia
Oxalato de calcio dihidratado + carbonatoapatita	Hipercalcemia y principalmente hiperparatiroidismo
Estruvita + carbonatoapatita	Infección con organismos productores de ureasa
Proteínas + estruvita + carbonatoapatita	Infección urinaria
Oxalato de calcio monohidratado + ácido úrico	Hiperuricosuria e intermitente hipercalcemia

9. Muñoz JA, Valiente M. Effects of trace metals on the inhibition of calcium oxalate crystallization. *Urol Res* 2005; 33: 267-72.
10. Paluszkiwicz C, Galka M, Kwiatek W, Parczewski A, Walas S. Renal stone studies using vibrational spectroscopy and trace element analysis. *Biospectrosc* 1997; 3: 403-7.
11. Safaa KHK, Azooz MA. Application of vibrational spectroscopy in identification of the composition of the urinary stones. *J Appl Sci Res* 2007; 3(5): 387-91
12. Ansari MS, Gupta NP, Hemal AK, Dogra PN, Monish ASA, Singh T P. Spectrum of stone composition: structural analysis of 1050 upper urinary tract calculi from northern India. *Int J Urol* 2005; 12: 12-6.
13. Balla AA, Salah AM, Kambal A, Bongartz D, Hoppe B, Hesse A. Mineral composition of renal stones from the Sudam. *Urol Int* 1998; 61: 154-6.
14. Guerra-López J, Pomés R, Della Védova CO, Viña R, Punte G. Influence of nickel on hydroxyapatite crystallization. *J Raman Spectroscopy* 2001; 32: 256-61.
15. Robert M, Boularan A, Delbos O, Guiter J, Descomps B. Study of calcium oxalate crystalluria on renal and vesical urines in stone formers and normal subjects. *Urol Int* 1998; 60: 41-6.
16. Guerra-López García J. Efecto de la presencia de cationes divalentes en la síntesis de hidroxiapatitas y compuestos relacionados. Modelo utilizado en el estudio del tejido óseo. Tesis Doctoral. Luján, Prov. de Buenos Aires: Universidad Nacional de Luján; 2005.
17. Wilson RM, Dowker SEP, Elliott JC. Rietveld refinements and spectroscopic structural studies of a Na-free carbonate apatite made by hydrolysis of monetite. *Biomaterials* 2006; 27: 4682-92.

**Aceptado para su publicación el 24 de marzo de 2008**

