

Microscopia óptica de cálculos urinários: estudo de caso

Optical microscopy of urinary stones: case study

Eduardo Brandau Quitete^a, Natasha da Silveira Pinto^b, Priscila Rodrigues Melo Leal^a, Jilson Cardoso^a, Fabiano Chotoli^a

^a Laboratório de Materiais de Construção Civil, Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo S.A., São Paulo-SP, Brasil.

^b Geóloga. Fundação de Apoio ao IPT, São Paulo-SP, Brasil.

E-mail: quitete@ipt.br

Palavras-chave:
cálculo renal; microscopia óptica; uricita; whewellita.

Keywords:
urinary stone; optical microscopy, uricite, whewellite.

Resumo

Cálculo urinário, comumente chamado de "pedra de rim", é uma pequena massa sólida formada por minúsculos cristais. O objetivo deste trabalho foi aplicar o método de microscopia ótica de luz transmitida polarizada, com o intuito de descrever e analisar fragmentos de cálculo urinário, comparando os resultados com o método de difratometria de raios X. Ambas as análises identificaram predomínio de whewellita associada à presença de quantidade relevante de uricita. A descrição textural apresentada pela microscopia ótica indicou a ocorrência de três eventos de cristalização e possibilitou a correlação com as possíveis causas da formação de cálculo, permitindo ao urologista e nutricionista reverem a dieta do paciente, a fim de evitar a recorrência de cálculo. Concluiu-se, então, que a microscopia ótica é uma importante ferramenta na caracterização mineralógica e textural de cálculos urinários, podendo auxiliar no diagnóstico e profilaxia de recorrências.

Abstract

Urinary stones, commonly called "kidney stone", is a small solid mass made up of tiny crystals. The objective of this work was to apply the polarized transmitted light microscopy method to describe and to analyze urinary stone fragments, comparing the results with the X-ray diffraction method. Both analyses identified whewellite predominance associated with the presence of relevant amount of uricite. The textural description, presented by optical microscopy, indicated the occurrence of three crystallization events and allowed the correlation with the possible causes of stone formation, allowing the urologist and the nutritionist to review the patient's diet in order to avoid recurrence of stone formation. It is concluded that optical microscopy, together with X-ray diffraction, is an important tool in the mineralogical and textural characterization of urinary stones and may be useful for the diagnosis and recurrence prophylaxis.

1 Introdução

Cálculo urinário, comumente chamado de "pedra de rim", é uma pequena massa sólida formada por cristais micrométricos a milimétricos. O cálculo pode ser encontrado tanto nos rins quanto em qualquer outro órgão do sistema urinário. Segundo Mendes (2014), estima-se que 14,8 % da população mundial sofre com litíase urinária, a patologia associada à presença de cálculo renal.

A composição, tamanho, forma e arranjo dos cristais dependem das anomalias químicas presentes na urina (ALELIGN; PETROS, 2018). Tais anomalias podem ser causadas por infecções, defeitos genéticos e medicamentos, dentre outros efeitos adversos. Segundo Türk et al. (2018) e Alelign e Petros (2018), aspectos mineralógicos estão diretamente relacionados à gênese do cálculo e permitem classificá-los em 5 grupos, conforme **Quadro 1**.

Quadro 1 – Causas, classificação mineralógica e ocorrência de cristais de cálculo renal

Causa	Grupo mineralógico (e exemplos)	Ocorrência
Infecciosa ou outras	cálcicas (whewellita, weddelita)	80 %
	fosfáticas (struvita, brushita)	(10 a 15) %
	ácido úrico (uricita)	(3 a 10) %
Genética	cistina	< 2 %
Medicamentosa	variável	1 %

Fonte: adaptado de Türk et al. (2018) e Alelign e Petros (2018)

Durante o período de 1991 a 1996, o Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT) emitiu diversos relatórios de ensaio de análise de cálculo urinário, produto de uma parceria com o Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Uma vez que a ocorrência de internações por litíase urinária aumentou cerca de 69 % nos últimos anos (GATTI et al., 2013), o Laboratório de Materiais de Construção Civil (LMCC) desenvolveu o interesse acadêmico em aprofundar a técnica de microscopia óptica aplicada à caracterização de cálculos urinários.

Este trabalho trata justamente de ilustrar a análise realizada pelo LMCC em fragmentos expelidos por um paciente voluntário em 2018, após procedimentos de litotripsia extracorpórea e a laser. Foi aplicada a técnica de microscopia óptica de luz transmitida polarizada em lâmina delgada, associada à difratometria de raios X (DRX) com refinamento pelo método de Rietveld. A execução de DRX teve o objetivo de comparação e complementação de resultados

2 Procedimento metodológico

Para a realização do trabalho, foram selecionados alguns fragmentos expelidos por um paciente voluntário e doados ao LMCC, após procedimentos de litotripsia extracorpórea e a laser, realizados em 2018. Aplicaram-se dois métodos de análise mineralógica, conforme descrito a seguir.

2.1 Difratometria de raios X, com refinamento quantitativo pelo método de Rietveld

A amostra foi moída em almofariz de ágata, umedecida com álcool etílico e depositada sobre lâmina de vidro, para evaporação do álcool. A seguir, a lâmina de vidro foi fixada no suporte metálico do equipamento. A análise foi realizada seguindo os parâmetros: tubo catódico de cobre ($\lambda = 1,542 \text{ \AA}$, na emissão K_{α}), corrente 40 mA e tensão 45 kV; varredura de 5° a 65° e tempo de corrida de 2° por minuto. Módulo Bragg-Brentano HD, fenda divergente de $1/4$, máscara de 20 mm, fenda soller 0,02 RAD e fenda antiespalhamento de $1/2^{\circ}$.

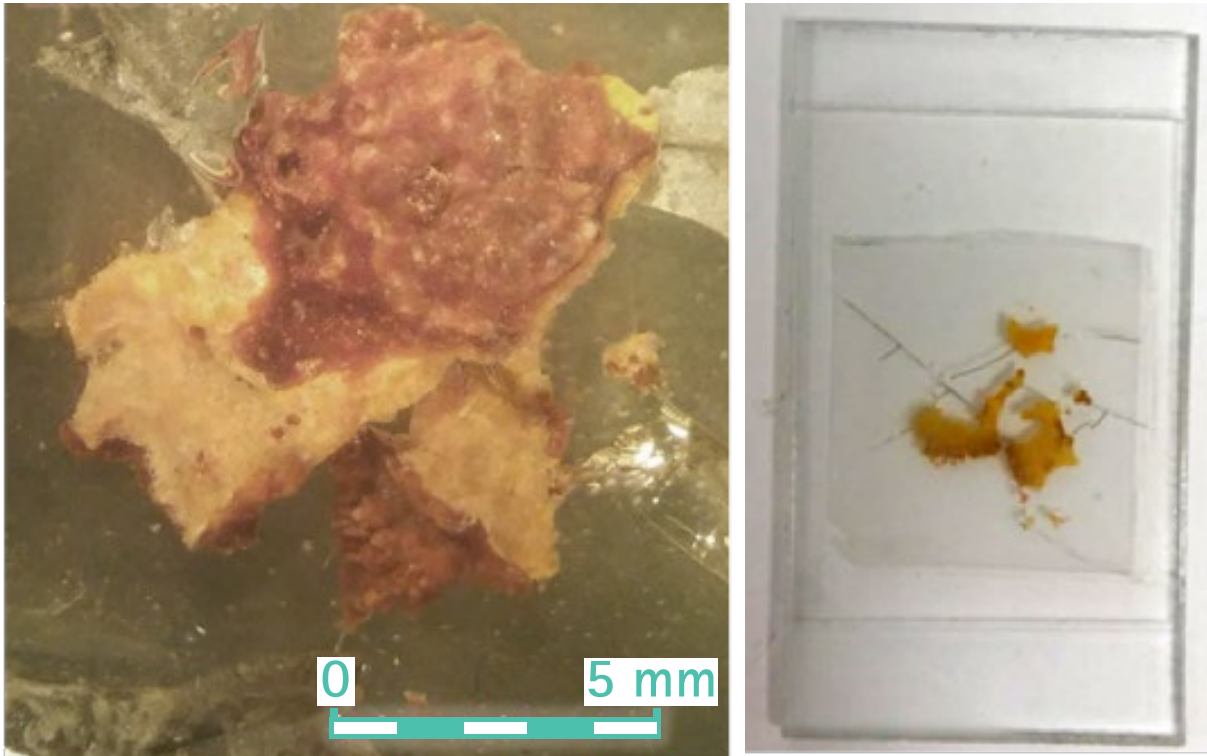
A identificação dos compostos foi executada por meio do software X-pert HighScore Plus [versão 4.6a] da Panalytical e padrões difratométricos e de estruturas fornecidos pelo banco de dados gratuito do COD (*Crystallography Open Database*, atualizado em 2017) e, eventualmente, padrões difratométricos e de estruturas do ICDD (*International Center for Diffraction Data*) e ICSD (*International Center for Structure Data*), respectivamente. O indicador estatístico utilizado para verificar os resultados do refinamento foi o GOF (*goodness of fitting*), além do gráfico das diferenças entre os difratogramas observados e calculados. A seguir, estão apresentados alguns dos parâmetros de refinamento utilizados em cada difratograma para obtenção dos percentuais das fases presentes, na respectiva ordem de aplicação: refinamento do fator escala; ajuste da linha de base; refinamento da constante do difratômetro ("Zero Shift"); refinamento da cela unitária das fases maiores; refinamento da cela unitária das fases; refinamento do perfil de pico (para fases presentes com mais de 5 %); refinamento da orientação preferencial (para compostos suscetíveis).

2.2 Microscopia óptica de luz transmitida polarizada

Alguns fragmentos selecionados foram embutidos em resina epóxi Aradur HY 951 e posteriormente lixados até que aflorassem à superfície. Tal superfície foi colada em uma lâmina de vidro com cola adesivo foto-curável, linha médica, código 30259. A seguir, a amostra foi desbastada, em rebolo diamantado e politriz para lixamento, até a espessura de $30 \mu\text{m}$. Por fim, foi colada uma lamínula de vidro sobre a amostra desbastada. Fragmentos embutidos e respectiva lâmina podem ser observados na **Figura 1**.

Após a confecção da lâmina, esta foi analisada no Microscópio Óptico Leica DM4500 P, acoplado a câmera digital DFC 7000 T e operado pelo software LAS 4.9. A classificação mineralógica seguiu os critérios apresentados por Tröger (1979).

Figura 1 - Fragmentos selecionados para análise, embutido em resina epóxi, seguida de lâminas delgadas. Dimensões da lâmina: 4,5 cm X 2,5 cm



Fonte: elaborada pelos autores

3 Resultados

3.1 Difractometria de raios X, com refinamento quantitativo pelo método de Rietveld

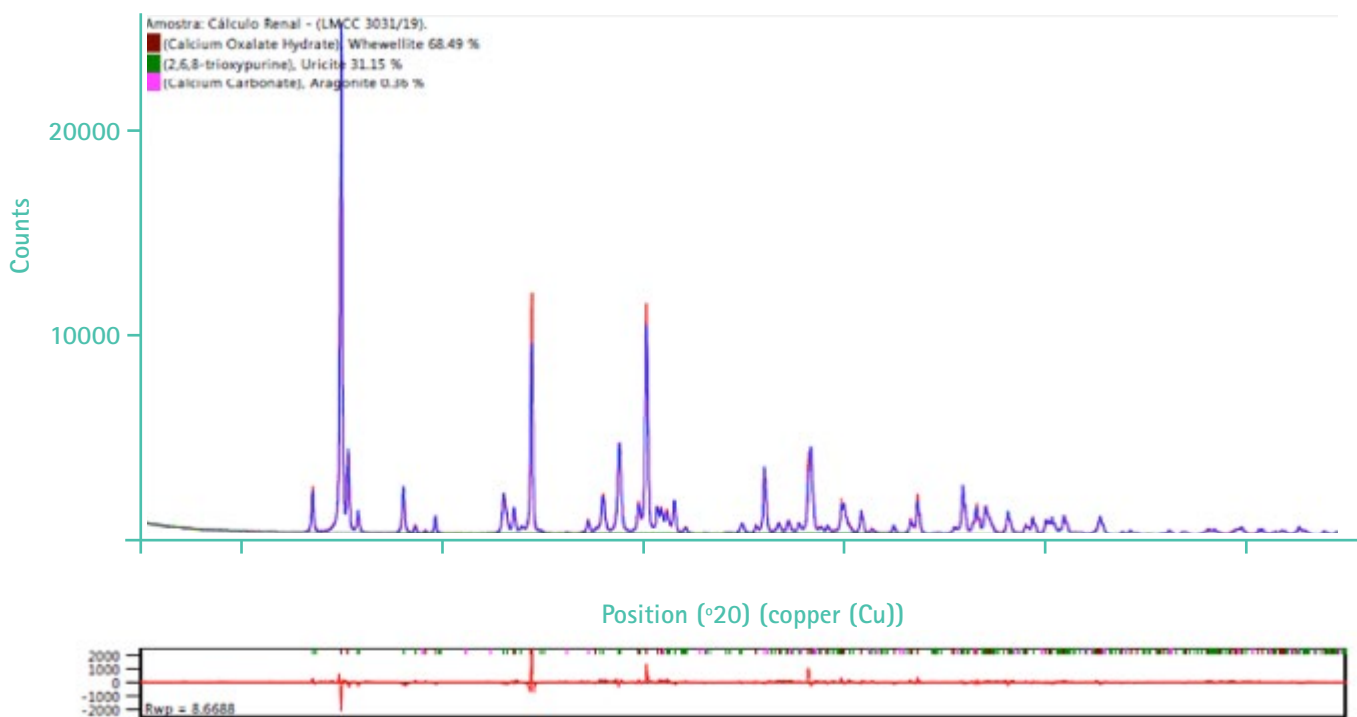
O resultado de análise mineralógica no material evidencia que este é composto essencialmente de whewellita ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) e ácido úrico ($\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$), com mineral acessório de aragonita (CaCO_3). Os padrões difratométricos e estruturas utilizadas estão apresentados na **Tabela 1** e **Figura 2**, respectivamente.

Tabela 1 – Parâmetros de referência de fichas das estruturas utilizadas e resultados da análise

Compostos ou fases mineralógicas	Fórmula molecular	Fichas de estruturas (código)	Resultados (%)
Whewellita	$\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	ICDD:98-024-6802	68,5
Ácido úrico	$\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$	ICDD:98-005-6916	31,2
Aragonita	CaCO_3	ICDD:96-901-5511	0,4

Fonte: elaborada pelos autores

Figura 2 – Difratoograma de Raios X da amostra de cálculo urinário



Fonte: elaborada pelos autores

3.2 Microscopia óptica de luz transmitida polarizada

Os resultados acham-se apresentados na **Tabela 2** e **Fotomicrografias 1 a 8**.

Tabela 2 – Resultados da microscopia óptica para a amostra de cálculo urinário

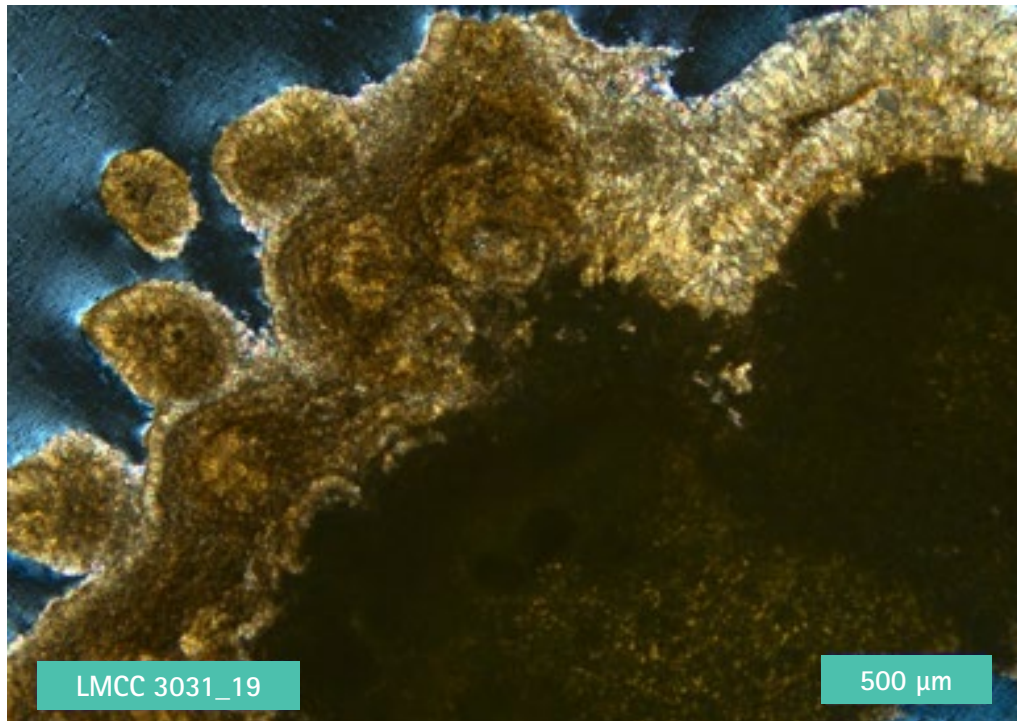
MATERIAL: Cálculo Renal	Lâmina IPT nº 12.265
ESTRUTURA: maciça (internamente) e botrioidal (externamente)	
MINERAIS: (avaliação visual - % estimada)	
Whewellita	65 a 70
Uricita (ácido úrico)	30
Aragonita	<5
Hidróxidos de ferro	-

DESCRIÇÃO: Nota-se whewellita em cristais de diferentes dimensões, predominantemente maiores e mais comuns na região central da amostra. A região periférica apresenta maior concentração de uricita (ácido úrico), geralmente em cristais alongados. Aragonita ocorre intersticialmente. Observa-se presença marcante de óxidos e hidróxidos de ferro não cristalinos, intersticiais e pervasivos.

O aspecto botrioidal é geralmente dado por núcleos de whewellita recobertos por cristais alongados e radiados de uricita, com presença marcante de hidróxidos de ferro na transição. Pontualmente, ocorrem núcleos menores de whewellita + hidróxidos de ferro, indicando que pode ter ocorrido coalescência de cálculos anteriores, formando um único cálculo maior, posterior.

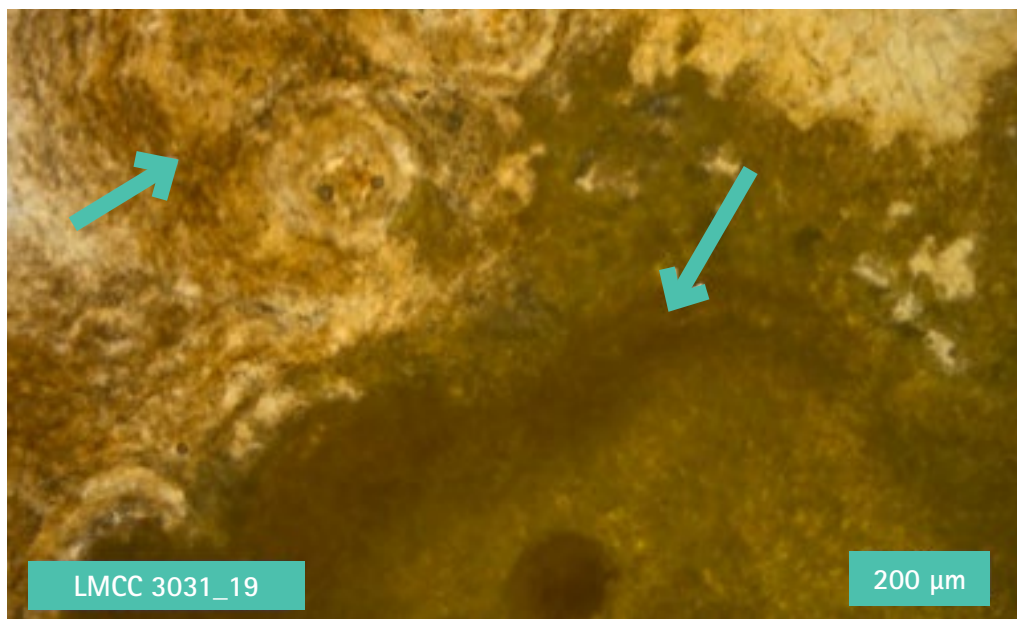
Fonte: elaborada pelos autores

Fotomicrografia 1 – Estrutura botrioidal. Luz transmitida, polarização cruzada



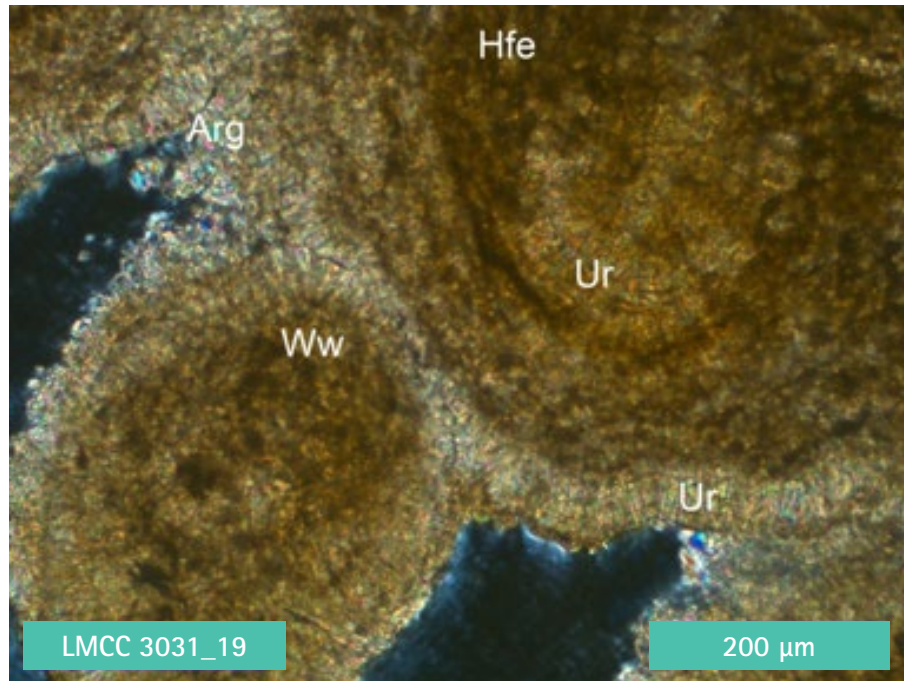
Fonte: elaborado pelos autores

Fotomicrografia 2 – Detalhe da Fotomicrografia 1. Setas indicam concentração de hidróxidos de ferro. Luz transmitida, polarização simples, com condensador



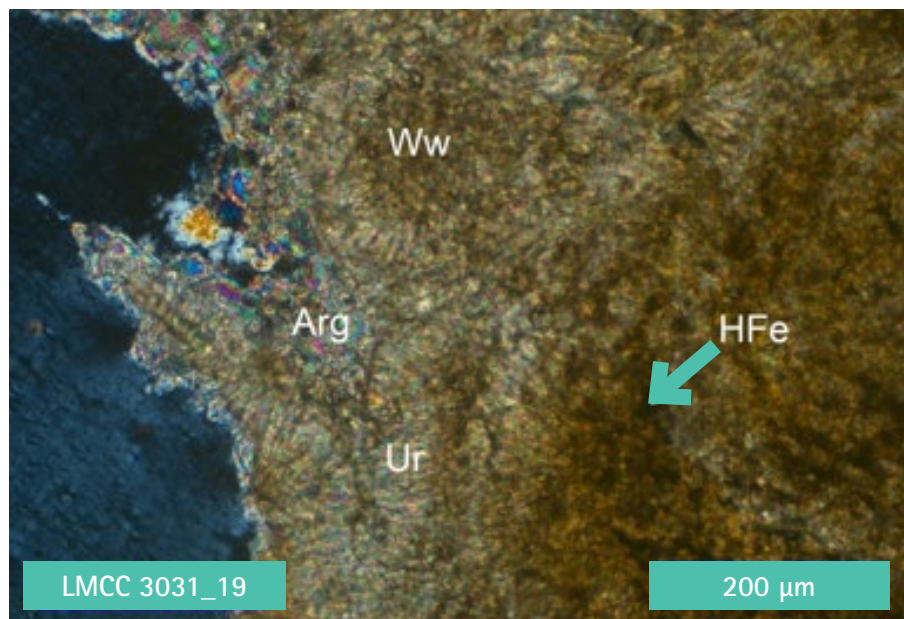
Fonte: elaborado pelos autores

Fotomicrografia 3 – Presença de whewellita (Ww), uricita (Ur), aragonita (Arg) e hidróxidos de ferro (HFe). Luz transmitida, polarização cruzada



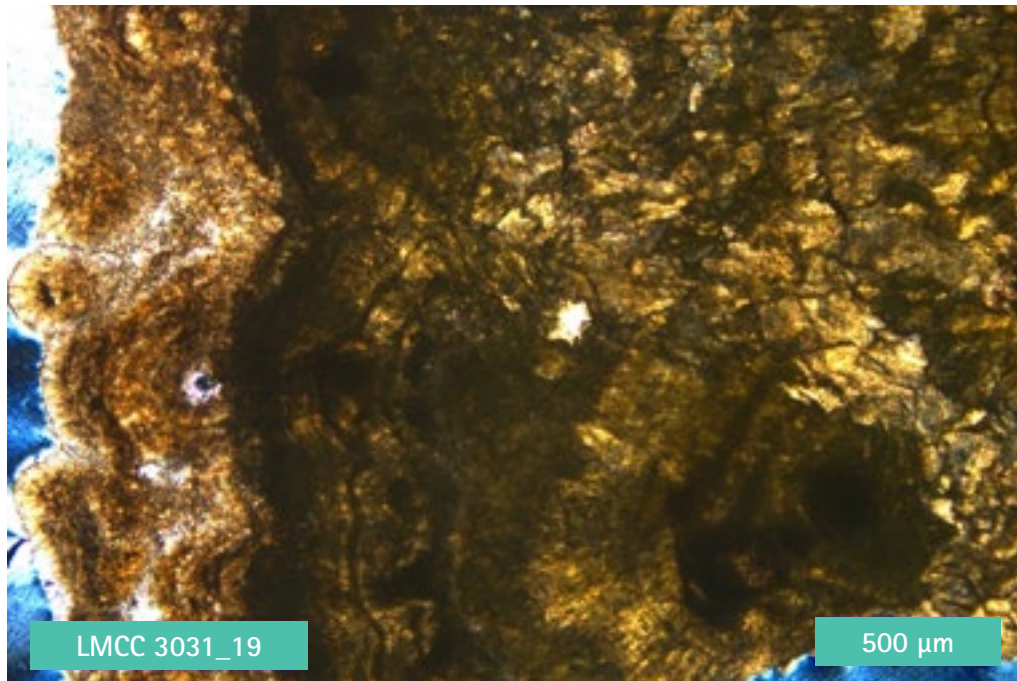
Fonte: elaborado pelos autores

Fotomicrografia 4 – Outra região com presença de whewellita (Ww), uricita (Ur), aragonita (Arg) e hidróxidos de ferro (HFe). Luz transmitida, polarização cruzada



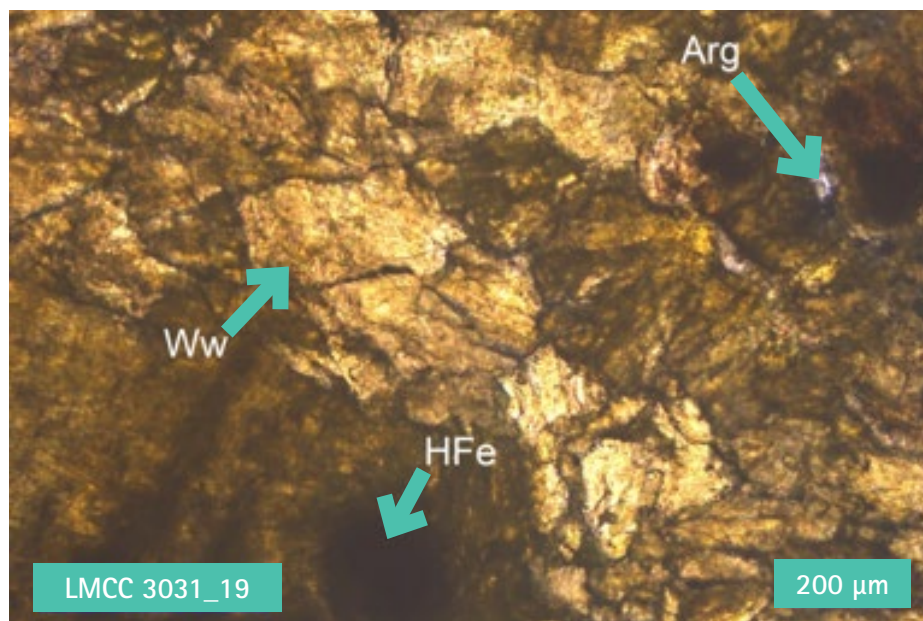
Fonte: elaborado pelos autores

Fotomicrografia 5 – Aspecto brotrioidal, com predomínio de whewellita no centro e uricita ao redor. Luz transmitida, polarização cruzada



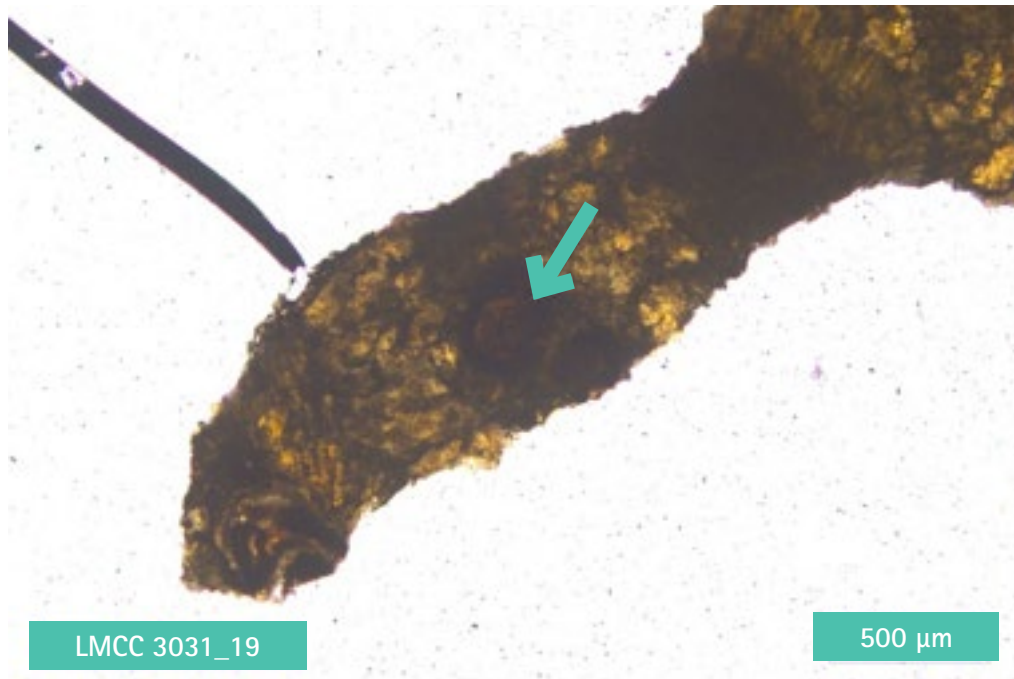
Fonte: elaborado pelos autores

Fotomicrografia 6 – Cristais de whewellita (Ww) com aragonita (Arg) intersticial e presença de hidróxidos de ferro (HFe). Polarização cruzada



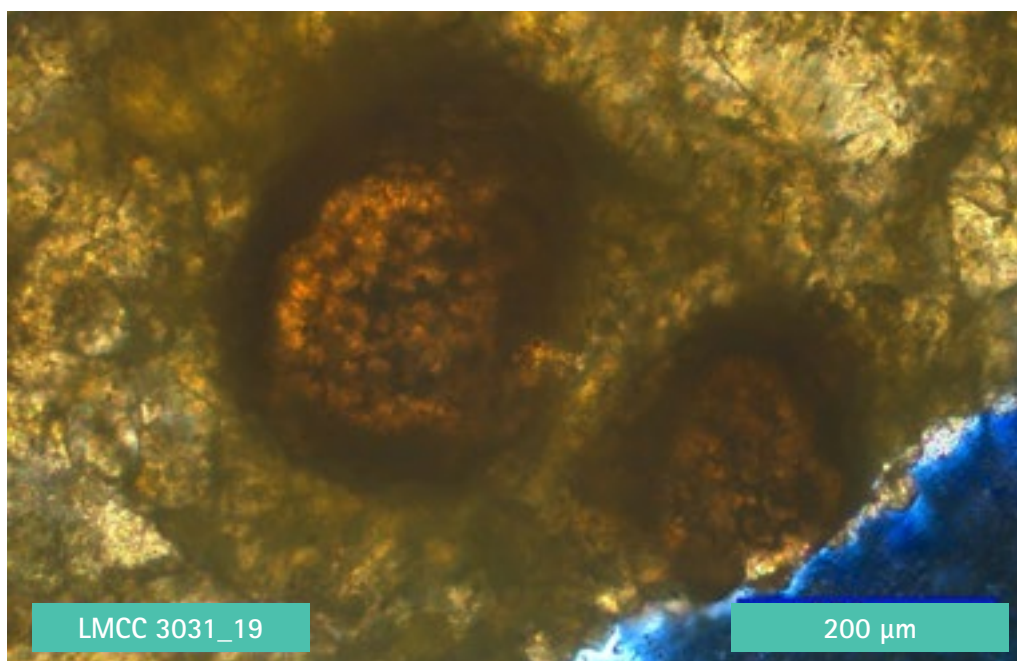
Fonte: elaborado pelos autores

Fotomicrografia 7 – Indicado por seta branca, núcleo de whewellita + hidróxidos de ferro. Luz transmitida, polarização simples



Fonte: elaborado pelos autores

Fotomicrografia 8 – Maior detalhe da Fotomicrografia 7. Luz transmitida, polarização cruzada



Fonte: elaborado pelos autores

4 Discussão

Como apresentado na seção anterior, pode-se notar que ambas as análises identificaram praticamente a mesma composição mineralógica. Os hidróxidos de ferro não foram detectados na difração de raios X, provavelmente por se tratar de fase não cristalina (amorfo). Situação semelhante ocorre nos dados de Abboud (2008), em que a análise química identifica o elemento ferro em teores entre 0,13 % a 4,73 %, com média de 1,78 %, porém não foi detectada nenhuma fase contendo ferro. Os resultados de DRX, um ensaio mais rápido, indicaram a proporção de cada fase, apresentando predomínio de whewellita associado a ácido úrico em quantidade relevante. Por sua vez, a microscopia óptica forneceu, além da composição mineralógica, informações texturais e a correlação temporal entre as fases.

Com base na **Tabela 2**, é possível inferir que ocorreram pelo menos três eventos de formação de cálculos. O primeiro, responsável pela cristalização de pequenos núcleos de whewellita (**Fotomicrografias 7 e 8**), pode ter sido ocasionado por hipercalcúria ou hiperossalúria (DALMORO et al., 2005). Por ser a whewellita um oxalato mono-hidratado, em oposição à weddelita (oxalato di-hidratado), é possível imaginar que a baixa ingestão de água seria uma causa plausível. O segundo evento de cristalização acarretou a formação de uricita. Segundo Ngo e Assimios (2007), artrite gotosa ("Gota") pode ser uma das causas de hiperuricosúria (excesso de ácido úrico) e consequente formação de uricita em cálculos urinários. Vale ressaltar que a transição do primeiro evento para o segundo foi marcado por aumento da presença de hidróxidos de ferro, interpretada pelos autores como resquícios de sangue. Essa ocorrência pode ser explicada pelo hábito cristalino da uricita, que tende a formar cristais pontiagudos que podem ferir o sistema urinário durante o deslocamento do cálculo (ver **Fotomicrografia 3, 4 e 6**). O terceiro evento dá-se no momento de coalescência dos núcleos previamente formados, gerando um único cálculo. Nessa fase, ocorre cristalização tanto de whewellita quanto de uricita. É possível que todos tenham ocorrido eventualmente de forma simultânea: enquanto alguns núcleos eram revestidos de uricita, outros já se encontravam aglomerados, enquanto novos núcleos se formavam. Isso explica o aspecto botrioidal mostrado nas **Fotomicrografias 1, 2 e 5**.

5 Conclusões

Com base na discussão apresentada na seção 4, é possível inferir que os cálculos neste paciente foram causados por uma associação de artrite gotosa (principal responsável pela hiperuricosúria) e desidratação (responsável pela hipercalcúria ou hiperossalúria e agravamento da hiperuricosúria).

A descrição textural apresentada pela microscopia óptica, associada à composição mineralógica, permitiu ao urologista e à nutricionista reverem a dieta do paciente, a fim de evitar a recorrência de cálculo. Após introdução de dieta restritiva em ácido úrico, associada a maior ingestão de água, não houve recorrência de cálculo até o momento, um ano depois.

Conclui-se, então, que a microscopia óptica é uma importante ferramenta na caracterização mineralógica e textural de cálculos urinários, podendo auxiliar no diagnóstico e profilaxia de recorrências.

6 Trabalhos futuros

Os resultados obtidos neste trabalho fomentaram um interesse ainda maior em seguir com as pesquisas em microscopia óptica de cálculos urinários. No próximo ano, o LMCC tem a intenção de submeter uma proposta de Projeto de Capacitação, além de buscar possíveis parcerias com órgãos de pesquisa ou hospitais potencialmente parceiros.

7 Agradecimentos

Agradecemos, primeiramente, ao IPT por proporcionar meios e equipamentos para a realização deste trabalho. Também agradecemos ao paciente voluntário e seu urologista, que tiveram o cuidado de armazenar os fragmentos e nos fornecer material para análise. Por fim, agradecemos também ao técnico Nilson de Paula pela preparação das amostras, e ao geólogo Eleno de Paula Rodrigues, pelo auxílio técnico.

8 Referências

ABBOUD, Iyad. Mineralogy and chemistry of urinary stones: Patients from North Jordan. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 30, p. 445-63, 2008. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/5784696_Mineralogy_and_chemistry_of_urinary_stones_Patients_from_North_Jordan>. Acesso em: 28 nov. 2019.

ALELIGN, Tilahun; PETROS, Beyene. Kidney stone disease: an update on current concepts. **Advances in urology**, v. 2018, p. 1-12, Feb. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1155/2018/3068365>>. Acesso em: 8 nov. 2019.

DAL MORO, F.; MANCINI, M., TAVOLINI, I. M., DE MARCO, V., BASSI, P. Cellular and molecular gateways to urolithiasis: a new insight. **Urologia internationalis**, v. 74, n. 3, p. 193-197, 2005. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/7924649>>. Acesso em: 8 nov. 2019.

GATTI, M. F. Z., FERRAZ, M. B., LEÃO, E. R., BUSSOTTI, E. A., CALIMAN, R. A. M. Custos hospitalares do diagnóstico e tratamento da cólica renal em um serviço de emergência privado brasileiro. **Revista Dor**, v. 14, n. 1, p. 12-16, jan./mar. 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1806-00132013000100004>>. Acesso em: 8 nov. 2019.

MENDES, Jorge Miguel Bastos. **Profilaxia da litíase renal**. 2014. Dissertação (Mestrado em Urologia) - Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Coimbra, 2014. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10316/31671>>. Acesso em: 8 nov. 2019.

NGO, Tin C.; ASSIMOS, Dean G. Uric acid nephrolithiasis: recent progress and future directions. **Reviews in urology**, v. 9, n. 1, p. 17, 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1831527/>>. Acesso em: 8 nov. 2019.

TRÖGER, W. E. **Optical determination of rock forming minerals: part I determinative tables**. Stuttgart: E. Schweizerbartsche Verlagsbuchhandlung; 1979. 188 p.

TÜRK, C.; NEISIUS, A.; PETRIK, A.; SEITZ, C.; SKOLARIKOS, A.; THOMAS, K. **EAU Guidelines on Urolithiasis**. Arhem: EAU Guidelines Office; 2018. 88 p. Disponível em: <<https://uroweb.org/wp-content/uploads/EAU-Guidelines-on-Urolithiasis-2018-large-text.pdf>>. Acesso em: 8 nov. 2019.

