

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ISIS ARMSTRONG DIAS

CARACTERIZAÇÃO MINERALÓGICA E GEOQUÍMICA DE CÁLCULOS RENAIS



CURITIBA

2016

ISIS ARMSTRONG DIAS

CARACTERIZAÇÃO MINERALÓGICA E GEOQUÍMICA DE CÁLCULOS RENAIIS

Monografia apresentada à Disciplina Trabalho de Conclusão de Curso II como requisito parcial para a obtenção da graduação em Geologia, Setor de Ciências da Terra, Universidade Federal do Paraná.

Orientação: Prof^a. Dr^a. Anelize Manuela Bahniuk Rumbelsperger.

CURITIBA

2016

“O que são os homens comparados às rochas e as montanhas?”

Jane Austen (Orgulho e Preconceito)

AGRADECIMENTOS

À Prof^a. Dr^a Anelize Bahniuk Rumbelsperger, pela orientação desde 2014, pela oportunidade oferecida, pelo contínuo entusiasmo e sobretudo pelo incentivo e ensinamentos dedicados até aqui.

Ao Prof^o. Dr^o Maurício de Carvalho e aos alunos de medicina Nikolas, Hernane, Mateus, Rafael, Paulo, Camila, Gilberto, Rodrigo e Henrique da UFPR e PUC-PR por prover e compartilhar as amostras de cálculos renais, e principalmente por toda ajuda sobre o tema e na realização das análises.

Ao LAMIR (Laboratório de Análise de Minerais e Rochas) pelo apoio financeiro na participação de diversos eventos acadêmicos e científicos e pela disposição de espaço, recursos e equipamentos e principalmente aos coordenadores Leonardo Cury e Eleonora Vasconcellos, funcionários e alunos que lá trabalham, cuja ajuda e apoio foram fundamentais para a realização desse trabalho e sobretudo, muito obrigada ao Prof^o José Manoel (*In memoriam*) por ter me apresentado ao tema e pela oportunidade e privilégio de continuar a pesquisa no LAMIR, além de todo incentivo e ensinamentos.

Ao Thiago da Silva, Rodrigo Secchi, Franciele Czervinski e Marcelo Maceno por toda a ajuda na realização das técnicas de isótopos estáveis e de difração e fluorescência de Raios X, além de todo apoio e ideias para a pesquisa.

À todos os meus colegas de turma e principalmente aos meus companheiros de equipe Veleda e Herick, com quem fiz os mapeamentos sedimentar e de graduação, muito obrigada pelo companheirismo, discussões geológicas e pela amizade desde o início do curso.

À minha família pela compreensão, carinho e suporte e em especial ao meu namorado Gustavo Queiroz pela parceria e ajuda imensurável neste último ano de curso, pelos auxílios nos *softwares* e na correção do artigo, além de todo apoio, incentivo e carinho.

RESUMO

Cálculos renais são depósitos de minerais formados no sistema urinário devido à supersaturação urinária, pH, hábitos alimentares, hereditariedade, dureza da água, participação de bactérias no organismo, entre outros. A composição mineralógica mais comum dos cálculos são oxalatos de cálcio (Whewellita e Weddelita), fosfatos de cálcio (grupo da apatita, whitlockita e brushita), além da estruvita, e compostos orgânicos como a cistina e a uricita. O objetivo da pesquisa é associar as características morfológicas e mineralógicas dos cálculos renais a fim de facilitar a identificação dos cálculos e auxiliar no tratamento dos pacientes, além de verificar se a alimentação e a água ingerida influenciam ou não na formação dos cálculos. Na pesquisa foram estudadas 160 amostras provenientes de pacientes atendidos no Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Paraná na cidade de Curitiba, Estado do Paraná, e as descrições e análises mineralógicas, químicas e isotópicas foram realizadas no Laboratório de Análises de Minerais e Rochas (LAMIR), do Departamento de Geologia da Universidade Federal do Paraná. A análise da composição mineral foi realizada pela técnica de Difractometria de raios X (DRX) e o resultado indicou que 11% dos cálculos renais estudados são poliminerálicos (formados por mais de dois minerais), 37% são biminerálicos e os 52% restantes são monominerálicos. A whewellita representa cerca de 57% das amostras analisadas, 17% são constituídas por estruvita e 10% por estrutura cristalina orgânica, denominada uricita ou ácido úrico. Além desses, ocorrem minerais de wheddellita, apatita, cistina, whitlockita, brushita e quartzo. A composição química de seis cálculos, obtida através da técnica de Fluorescência de Raios X (FRX), mostrou que a maioria deles possuem fosfato de cálcio, além de magnésio, sódio e enxofre. A análise isotópica de carbono e oxigênio mostrou diferentes resultados entre os cálculos, compostos predominantemente por whewellita, estruvita e apatita, com valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre -24 e -8‰ e $\delta^{18}\text{O}$ entre -12 e -6‰. Os resultados indicaram que para algumas espécies minerais é possível distinguir os cálculos, baseando-se na sua dureza e cor. A associação dos aspectos morfológicos e mineralógicos pode ser feita para determinados minerais de forma satisfatória e os resultados da DRX e FRX confirmam a predominância dos oxalatos e fosfatos de cálcio. Os resultados isotópicos indicam que possivelmente há influência da alimentação e da água na formação dos cálculos renais.

Palavras-chave: Geologia médica, nefrolitíase, cálculos renais, mineralogia.

ABSTRACT

Kidney stones are mineral deposits generated in urinary system by urinary supersaturation, pH, eating habits, genetic, water hardness, bacterial influence in human organism and other factors. The most common minerals in kidney stones are calcium oxalates (Whewellite and Weddellite), calcium phosphates (apatite group, whitlockite and brushite), besides struvite and chemical compounds such as cystine and uric acid. The purpose of this study is associate morphological and mineralogical characteristics of kidney stones in order to simplify their identification process and support the patients' medical treatment, besides to verify the influence of a person's diet and water intake in stone formation. We have studied 160 samples from patients treated in *Hospital das Clínicas* of Curitiba-PR and the morphological, mineralogical, chemical and isotopic analyses were done at *Laboratório de Análises de Minerais e Rochas* (LAMIR), from Geology Department of Federal University of Paraná. The mineralogical composition analysis was done by X Ray Diffraction (XRD) technique and its results have indicated that 11% of stones are polymineralic (stones formed by more than 2 minerals); 35% are bimineralic and 54% are monomineralic. The whewellite stone represents 64% of the samples, 14% are uric acid or uricite, an organic crystal structure, and 10% are struvites. Besides these minerals, weddellite, apatite, cystine, whitlockite, brushite and quartz also occur. The chemical composition of six samples obtained by X Ray Fluorescence (XRF) has shown that most of the kidney stones are comprised by calcium phosphates, besides magnesium, sodium and sulfur. Isotopic analyses of carbon and oxygen isotopes have shown different results between the kidney stones formed mainly by whewellite, struvite and apatite, whose $\delta^{13}\text{C}$ values range from -23 to -8‰ and $\delta^{18}\text{O}$ values range between -12 e -6‰. The results have indicated that for some mineral species in kidney stones it is possible to distinguish them, based in their relative hardness and color. The association of mineralogical and morphological aspects can be done satisfactorily for specific kidney stones minerals and the results obtained by XRD and XRF confirmed the dominance of calcium phosphates and oxalates stones. The isotopic results have been indicated that probably food and water intake influence in the generation of kidney stones.

Keywords: Medical geology, nephrolithiasis, kidney stones, mineralogy.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 3.1.1 – ETAPAS DE PREPARAÇÃO DOS CÁLCULOS. NA ETAPA (A) TEM-SE A AMOSTRA INTEIRA NO INTERIOR DO GRAL DE ÁGATA. ETAPAS (B) E (C) CORRESPONDEM À PULVERIZAÇÃO PARCIAL DO CÁLCULO E A ETAPA (D) MOSTRA O CÁLCULO TOTALMENTE PULVERIZADO, COM GRANULAÇÃO MUITO FINA.....	21
FIGURA 3.2.1 – GRAU DE ARREDONDAMENTO E ESFERICIDADE DAS PARTÍCULAS. NO EIXO HORIZONTAL HÁ UM DECRÉSCIMO DO GRAU DE ARREDONDAMENTO DA ESQUERDA PARA A DIREITA E NO EIXO VERTICAL HÁ AUMENTO DE ESFERICIDADE DO TOPO PARA A BASE.....	22
FIGURA 3.3.1 – A) PREPARAÇÃO DA AMOSTRA PULVERIZADA NO PORTA AMOSTRA; B) PORTA AMOSTRA COM O PÓ DE AMOSTRA COMPACTADA E C) DIFRATÔMETRO <i>PANALYTICAL</i> , MODELO <i>EMPYRIAN</i> COM DETECTOR <i>X-CELERATOR</i>	24
FIGURA 3.4.1 – A) PRENSA PFAFF ONDE SÃO FEITAS AS PASTILHAS E B) EQUIPAMENTO AXIOS MAX DY 5297 ONDE É FEITO A LEITURA DOS FEIXES ESPECTRAIS DAS AMOSTRAS.....	25
FIGURA 3.5.1 – A) ESPECTRÔMETRO DE MASSA <i>THERMO-SCIENTIFIQUE</i> , MODELO <i>DELTA V ADVANTAGE ISOTOPE RATIO MS</i> E B) MATERIAIS DE PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISE ISOTÓPICA.	26
FIGURE 1 – KIDNEY STONES CLASSIFICATION ON THE BASIS OF THEIR MINERAL DIVERSITY (RESULTS OBTAINED BY XRD).	40
FIGURE 2 – MINERALOGICAL COMPOSITION OF MONOMINERALIC KIDNEY STONES.....	41
FIGURE 3 – PROPORTION OF THE BIMINERALIC STONES PAIRS AND THEIR MAIN MINERALS.....	42
FIGURE 4 – PERCENTAGE OF EACH MINERAL PAIR IN BIMINERALIC KIDNEY STONES.....	42
FIGURE 5 – TEMPLATE SHOWING IMAGES OF WHEWELLITE MINERALS, DEMONSTRATING THE MORPHOLOGICAL DIFFERENCE OF THEIR OCCURRENCES. THE KIDNEY STONES OF THE IMAGES FROM (A) TO (G) ARE COMPRISED BY 100% OF WHEWELLITE MINERAL, WHEREAS THE STONES OF THE IMAGES FROM (H) TO (P) DECREASE THE QUANTITY OF WHEWELLITE.....	45
FIGURE 6 – TEMPLATE SHOWING IMAGES OF WEDDELLITE MINERALS. ALL OF THE SAMPLES ARE BIMINERALIC. THE IMAGE (A) IS COMPOSED BY 70% OF WEDDELLITE AND 30% OF APATITE AND THE IMAGES (B), (C) AND (D) ARE COMPOSED BY APPROXIMATELY 75% OF WEDDELLITE AND 25% OF WHEWELLITE.....	46

FIGURE 7 – TEMPLATE SHOWING IMAGES OF STRUVITE MINERALS. THE KIDNEY STONES ARE COMPOSED BY 100% OF STRUVITE MINERAL AND EVEN THOUGH THE SAME COMPOSITION, THE SAMPLES SHOW MORPHOLOGICAL DIFFERENCES BETWEEN THEM.....	47
FIGURE 8 – TEMPLATE SHOWING IMAGES OF APATITE MINERALS. THE KIDNEY STONES ARE COMPOSED BY 100% OF APATITE MINERAL AND EVEN THOUGH THE SAME COMPOSITION, THE SAMPLES SHOW MORPHOLOGICAL DIFFERENCES BETWEEN THEM.....	48
FIGURE 9 – TEMPLATE SHOWING IMAGES OF WHITLOCKITE MINERALS. THE KIDNEY STONE OF THE IMAGE (A) IS MORE ORANGE THAN THE OTHER STONES IN THIS TEMPLATE AND IT HAS ABOUT 80% OF WHITLOCKITE MINERAL, AND THE STONES OF THE IMAGES (B) AND (C) HAVE LESS THAN 40% OF WHITLOCKITE MINERAL.....	49
FIGURE 10 - TEMPLATE SHOWING IMAGES OF BRUSHITE MINERALS. THE KIDNEY STONE OF THE IMAGE (A) IS COMPOSED BY 78% OF BRUSHITE, BESIDES APATITE AND WHEWELLITE. THE STONE OF THE IMAGE (B) IS COMPOSED BY 97% OF BRUSHITE AND 3% OF APATITE.....	49
FIGURE 11 – TEMPLATE SHOWING IMAGES OF URIC ACID OR URICITE MINERALS. THE KIDNEY STONES OF THE IMAGES (‘C) AND (D) ARE COMPOSED BY 100% OF URICITE MINERAL AND THE KIDNEY STONES OF THE IMAGES (A), (B), (E) AND (F) ARE COMPOSED FROM 70% TO 90% OF URICITE.....	50
FIGURE 12 – TEMPLATE SHOWING IMAGES OF CYSTINE MINERALS. THE KIDNEY STONES ARE COMPOSED BY 100% OF CYSTINE MINERAL, SHOWING SIMILAR MORPHOLOGICAL FEATURES.....	51
FIGURE 13 – $\delta^{13}\text{C}$ VERSUS $\delta^{18}\text{O}$ VALUES OF 13 KIDNEY STONES SEPARATED INTO FOUR GROUPS: HYDROXIAPATITE, F-APATITE + STRUVITE, STRUVITE AND WHEWELLITE.....	53
FIGURE 14 - $\delta^{13}\text{C}$ VERSUS $\delta^{18}\text{O}$ VALUES OF WHEWELLITE GROUP STONES, WITH DECREASE WHEWELLITE PERCENTAGE FROM LEFT TO RIGHT.....	54
FIGURE 15 - MORPHOLOGICAL CLASSIFICATION OF KIDNEY STONES USING RELATIVE HARDNESS AND COLOR ASPECTS.....	57

LISTA DE TABELAS

TABELA 3.2.1 – ESCALA DE DUREZA DE MOHS. NA PRIMEIRA COLUNA TEM-SE A ESCALA RELATIVA, QUE VARIA DE 1 A 10, NA SEGUNDA COLUNA TEM-SE OS RESPECTIVOS MINERAIS E FÓRMULAS QUÍMICAS E A ÚLTIMA COLUNA REPRESENTA A ESCALA ABSOLUTA CORRESPONDENTE A CADA MINERAL. FONTE: GRAÇA PORTO (2016)	23
TABLE 1 – MINERALOGICAL COMPOSITION OF POLYMINERALIC KIDNEY STONES	43
TABLE 2 – SUMMARY OF MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF EACH KIDNEY STONE SAMPLE REGARDING TO ITS MINERALOGY.....	51
TABLE 3 – CHEMICAL COMPOSITION OF CYSTINE, WHEWELLITE, STRUVITE, WEDDELLITE AND APATITE MINERALS IN KIDNEY STONES OBTAINED BY XRF.....	52
TABLE 4 – ISOTOPIC DATA OF 18 KIDNEY STONES AND THEIR RESPECTIVE MINERALS AND CHEMICAL FORMULA.....	56

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
1.1 JUSTIFICATIVA.....	13
1.2 OBJETIVOS.....	13
2. ESTADO DA ARTE	14
2.1 PRINCIPAIS MINERAIS ENCONTRADOS EM CÁLCULOS RENAIIS.....	14
<i>Oxalato de Cálcio - $\text{Ca}(\text{C}_2\text{O}_4) \cdot (\text{H}_2\text{O}) (2)$</i>	14
<i>Fosfato de Cálcio - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2(\text{OH}, \text{F}, \text{Cl}, \text{Mg Fe}^{2+})$</i>	15
<i>Estruvita - $(\text{NH}_4)\text{Mg}(\text{PO}_4) \cdot 6(\text{H}_2\text{O})$</i>	15
<i>Ácido Úrico ou Uricita - $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$</i>	16
<i>Cistina - $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2$</i>	16
2.2 MECANISMOS DE FORMAÇÃO DOS CÁLCULOS RENAIIS.....	16
3. MATERIAIS E MÉTODOS	20
3.1 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	20
3.2 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA	21
3.3 ANÁLISE MINERALÓGICA	23
3.4 ANÁLISE QUÍMICA.....	25
3.5 ANÁLISE ISOTÓPICA	26
4. RESULTADOS - Os principais resultados do TCC foram organizados na forma de artigo o qual será submetido à Revista <i>Brazilian Journal of Geology</i>.	29
1. INTRODUCTION	30
2. STATE OF ART	32
2.1. Types of Stones	32
2.2. Mechanisms of Stone Formation	34
3. SAMPLING AND METHODS	37
3.1. Sampling	37
3.2. Methods	37

4. RESULTS	39
4.1. Mineralogical Features	39
4.1.1. <i>MONO, BI AND POLYMINERALIC CLASSIFICATION</i>	39
4.1.2. <i>MINERALOGICAL COMPOSITION</i>	40
4.2. Morphological Aspects	43
4.2.1. <i>WHEWELLITE</i>	44
4.2.2. <i>WEDDELLITE</i>	45
4.2.3. <i>STRUVITE</i>	46
4.2.4. <i>APATITE</i>	47
4.2.5. <i>WHITLOCKITE</i>	48
4.2.6. <i>BRUSHITE</i>	49
4.2.7. <i>URIC ACID</i>	49
4.2.8. <i>CYSTINE</i>	50
4.3. Chemical Composition	51
4.4. Isotopic Analyses	52
5. DISCUSSIONS	55
6. CONCLUSIONS	59
ACKNOWLEDGEMENTS	61
REFERENCES.....	61
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	64
REFERÊNCIAS.....	66
APÊNDICE 1 - COMPOSIÇÃO MINERALÓGICA DE TODAS AS AMOSTRAS NO PERÍODO DE 2012 A 2016.....	69
APÊNDICE 2 - COMPOSIÇÃO MINERALÓGICA DOS CÁLCULOS BIMINERÁLICOS.....	70

1. INTRODUÇÃO

A nefrolitíase ou urolitíase é o processo de formação de cálculos renais, cuja origem etimológica é derivada do grego, onde “Nefro” e “Uro” provém de rim e urina, respectivamente; “Lito” significa pedra ou rocha e “íase” relaciona-se a uma condição patológica ou mórbida (ETYMOLOGY DICTIONARY, 2016).

Desde a antiguidade são conhecidos casos onde a nefrolitíase atinge seres humanos e animais. (BALAJI e MANI MENON, 1997). Acredita-se que cerca de 5 a 10% da população mundial apresentarão ao longo da vida a ocorrência de um cálculo renal, sendo que destes, aproximadamente 50% terão reincidência da doença. (BRENER *et al.*, 2011). No Brasil, cerca de 5% da população, ou seja, 10 milhões de pessoas têm cálculos renais, sendo a maior incidência no grupo de pessoas entre 30 a 40 anos. (PERES *et al.*, 2003).

Os cálculos renais são depósitos de minerais inorgânicos ou orgânicos formados dentro do sistema urinário, onde a precipitação inicia-se principalmente pela supersaturação e volume urinário. (BRANCO *et al.*, 2009). Os cálculos são formados principalmente por oxalatos e fosfatos de cálcio, sendo a whewellita (oxalato de cálcio mono-hidratado) o mineral mais comum na literatura e na atual pesquisa. Os fosfatos ocorrem em algumas variedades de apatita como hidroxiapatita, fluorapatita, e apatita *stricto sensu*, assim como whitlockita, brushita e estruvita, observando-se ainda cálculos orgânicos formados por ácido úrico ou uricita e cistina. (CORDUA, 1996).

Considerando a diversidade mineralógica encontrada nos cálculos, os controles que condicionam a formação destes podem ter diferentes origens, porém, não há ainda um consenso sobre como os mecanismos atuam no seu desenvolvimento. Sabe-se, contudo, que a localização geográfica, hábitos alimentares, quantidade de ingestão de água, hereditariedade, pH e composição química da urina têm papel fundamental na ocorrência da nefrolitíase. (LIESKE *et al.* 1999 e BRANCO *et al.* 2009). Outras alternativas para a origem da doença sugerem que a dureza da água e a participação de bactérias no organismo influenciam e até mesmo induzem a formação de cálculos.

A pesquisa faz parte do Projeto Nefro, uma parceria do Laboratório de Análises de Minerais e Rochas (LAMIR) com o Centro de Pesquisas Nefrológicas do Hospital das Clínicas (HC-UFPR) onde participam alunos de graduação, mestrado e doutorado dos cursos de Geologia e Medicina. O presente trabalho pretende caracterizar a morfologia e mineralogia dos cálculos renais, buscando identificar características comuns dos minerais pelos métodos de Difractometria de raios X e descrições morfológicas, bem como analisar e interpretar se a hidratação e alimentação do indivíduo influenciam ou não na formação dos cálculos através de seus resultados isotópicos de ^{13}C e ^{18}O .

O Trabalho de Conclusão de Curso está organizado na forma tradicional, porém, no item resultados é apresentado o manuscrito intitulado “A geological view about Kidney Stones”, o qual será submetido à revista *Brazilian Journal of Geology*.

1.1 JUSTIFICATIVA

Os cálculos renais podem ser estudados tanto do ponto de vista médico quanto do geológico e, apesar da existência dessa interdisciplinaridade, há ainda pouca interação entre a Medicina e a Geologia na tentativa de caracterizar e identificar os mecanismos de formação dos cálculos. Os trabalhos que existem na literatura são basicamente voltados à área médica, portanto, são importantes pesquisas desses cristais sob o contexto mineralógico, aplicando-se técnicas da Geologia na descrição e interpretação das características mineralógicas e morfológicas em escala macroscópica e microscópica.

1.2 OBJETIVOS

O objetivo geral da pesquisa é identificar macroscopicamente os cálculos através da correlação dos aspectos morfológicos e mineralógicos, assim como interpretar se a hidratação e a alimentação influenciam ou não na formação de cálculos. Os objetivos específicos, portanto, são:

- Caracterizar os cálculos através de seus aspectos morfológicos semelhantes;
- Identificar os principais minerais constituintes dos cálculos;
- Estabelecer uma relação entre os aspectos morfológicos semelhantes e a composição mineralógica, afim de facilitar a identificação e reconhecimento destes;
- Verificar os principais óxidos constituintes dos minerais;
- Verificar se os dados isotópicos de carbono e oxigênio são diferentes.

2. ESTADO DA ARTE

Cálculos renais, também popularmente conhecidos como pedras no rim, são agregados de minerais que se formam dentro do organismo humano ou animal e mesmo sendo gerados organicamente, também são considerados minerais, pois de acordo com uma definição mais ampla de Klein e Dutrow (2012, p.29), apesar dos minerais serem frequentemente formados por processos inorgânicos, eles podem ser também produzidos organicamente, como os carbonatos das conchas e as apatitas dentais e ósseas nos seres humanos.

2.1 PRINCIPAIS MINERAIS ENCONTRADOS EM CÁLCULOS RENAIIS

Existem inúmeros mecanismos que contribuem para a formação ou inibição da cristalização dos cálculos e dependendo desses mecanismos, cada indivíduo poderá gerar cálculos com diferentes tipos de minerais. (BRANCO *et al.* 2009).

Oxalato de Cálcio - $Ca(C_2O_4) \cdot (H_2O)$ (2)

Os minerais mais comuns nos cálculos são os oxalatos de cálcio monohidratado e di-hidratado, também denominados de Whewellita e Weddellita, respectivamente. (LIESKE *et al.* 1999). As principais causas dos oxalatos de cálcio,

segundo Balaji e Mani Menon (1997), são a hipercalcúria idiopática, hipocitratúria, hiperoxalúria e hiperuricosúria. A hipercalcúria idiopática é a excreção de grande quantidade de cálcio na urina, cujas causas podem estar relacionadas a uma anormalidade primária no aumento de absorção de cálcio; um “escape” renal de cálcio ou uma reabsorção de cálcio a partir da desmineralização óssea.

A hipocitratúria é a baixa concentração de citrato (importante inibidor na formação dos oxalatos) na urina devido à acidose metabólica, o que facilita a formação dos cálculos. (BALAJI e MANI MENON, 1997). A hiperoxalúria contribui para a formação dos cristais de oxalatos e pode ser causada por deficiências na enzima alanina e nas enzimas hepáticas; já a hiperuricosúria é a ingestão excessiva de purina, onde o ácido úrico é o responsável pela cristalização de oxalatos de cálcio. (BALAJI e MANI MENON, 1997).

Fosfato de Cálcio - $Ca_3(PO_4)_2(OH, F, Cl, Mg Fe^{2+})$

De acordo com Balaji e Mani Menon (1997) os fosfatos de cálcio são o segundo grupo de minerais mais comuns nos cálculos, ocorrendo na forma de apatita, flúor-apatita, hidroxí-apatita, além de minerais mais raros, como a whitlockita (fosfato de cálcio com magnésio e ferro) e brushita (fosfato de cálcio di-hidratado). Os cálculos de fosfatos de cálcio só ocorrem sob alta pressão de cristalização e sua formação associa-se a um defeito de acidificação (aumenta o pH) no tubo renal, o que provoca a supersaturação de fosfato de cálcio. (BALAJI e MANI MENON, 1997).

Estruvita - $(NH_4)Mg(PO_4) \cdot 6(H_2O)$

A estruvita também é um tipo de fosfato, porém pode conter carbonato, além de magnésio e amônia. Elas se formam principalmente por infecções urinárias provocadas por bactérias, que promovem condições de pH alcalino (>7,2) dentro do sistema urinário, além de uma sequência de reações químicas que geram amônia e ácido carbônico. (BALAJI e MANI MENON, 1997).

Ácido Úrico ou Uricita - $C_5H_4N_4O_3$

Os cálculos de uricita são compostos orgânicos que ocorrem frequentemente nos homens e formam-se devido à uma combinação de supersaturação da urina em relação ao ácido úrico não dissociado, longos períodos de acidez da urina (pH em torno de 5,5) e baixo volume urinário, além de doenças como a gota, e medicamentos à base de drogas citotóxicas. (BALAJI e MANI MENON, 1997).

Cistina - $C_6H_{12}N_2O_4S_2$

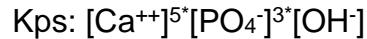
A cistina ou L-cistina é definida como a ligação de moléculas orgânicas por enxofre, que representa o principal constituinte desse mineral. Os cálculos de cistina são gerados pela Cistinúria, uma doença autossômica recessiva relacionada com o transporte intestinal e renal do aminoácido cistina, que apresenta baixa solubilidade no pH natural do sistema urinário. (BALAJI e MANI MENON, 1997).

2.2 MECANISMOS DE FORMAÇÃO DOS CÁLCULOS RENAIIS

Há ainda muitas controvérsias sobre como os cálculos são formados, mas acredita-se que os controles principais são a supersaturação e a cristalização. (BALAJI e MANI MENON, 1997). De acordo com estes autores, a sequência de eventos seria a saturação, supersaturação, nucleação, crescimento ou agregação de cristais, retenção dos cristais e a formação dos cálculos.

A supersaturação é definida por uma alta concentração de solutos no solvente até um ponto específico onde não é mais possível ocorrer a dissolução. A partir desse ponto, se mais soluto for adicionado ao solvente, este irá cristalizar, se as condições de temperatura e pH continuarem as mesmas. Esse ponto específico onde começa a acontecer a cristalização é denominado de Produto de Solubilidade Termodinâmica ou Kps. (BALAJI e MANI MENON, 1997). Segundo estes autores, numa solução pura,

cristais de fosfatos de cálcio começariam a se formar, por exemplo, quando o produto da concentração dos componentes químicos puros desse mineral for:



Na urina, todavia, as condições de cristalização são complexas, pois ela contém íons e agentes inibidores que interagem com cálcio e fosfato ou oxalato, sendo, portanto, uma solução metaestável. Ainda assim, há também um limite de concentração desses solutos, chamado de “produto de formação (Pf)”, a partir do qual inicia a cristalização do fosfato ou oxalato de cálcio. (BALAJI e MANI MENON, 1997).

A temperatura é um fator condicionante na maioria das reações químicas, todavia, no organismo a temperatura exerce pouca influência pois está sempre em torno de 37°C, por outro lado, as variações do pH são clinicamente importantes. A maioria dos cálculos formam-se em pH alcalino, ou seja, conforme aumenta o pH, diminui a solubilidade dos fosfatos e oxalatos de cálcio. Os cálculos formados por ácido úrico, entretanto, formam-se em pH ácido, ou seja, para esses tipos de cálculo, a solubilidade aumenta conforme aumenta o pH. (BALAJI e MANI MENON, 1997).

Atingindo então o produto de formação dos oxalatos e fosfatos de cálcio na urina, inicia-se a nucleação desses íons, que servem como superfície para o crescimento do cálculo renal. De acordo com Lieske *et al.* (1999), os cristais de oxalato e fosfato de cálcio aderem aos sítios aniônicos na superfície das células epiteliais renais, como se os cristais fossem positivamente carregados e as células dos rins negativamente carregadas, sendo os cristais, portanto, rapidamente englobados por essas células, que iniciam então a reorganização do citoesqueleto, a alteração na expressão dos genes e a sua proliferação.

De acordo com Lieske *et al.* (1999), alterações na quantidade ou estrutura de específicas moléculas aniônicas na superfície das células renais ou no fluído tubular contribuiria para a retenção do cristal. Adicionalmente para esses autores, apenas um cristal gerado pela nucleação não seria capaz de evoluir para um cálculo renal grande o

suficiente para se deslocar dos rins para o canal da bexiga. Deve ocorrer, entretanto, a agregação de inúmeros cristais, que posteriormente irão formar os cálculos urinários.

Uma hipótese ainda questionável é a influência da dureza da água na formação ou inibição de cálculos renais. De acordo com a definição da USGS (2016), a dureza da água é definida principalmente pela quantidade de cálcio e magnésio, além de outros metais presentes na água, sendo então classificada como leve (0 a 60 mg/L de carbonato de cálcio), moderada (61 a 120 mg/L), dura (121 a 180 mg/L) e muito dura (>180 mg/L).

De acordo com Siener *et al.* (2004) e Irsay *et al.* (2014) a ingestão de água dura inibi e diminui os riscos de cristalização de oxalato de cálcio, pois segundo os autores, o magnésio e o bicarbonato de cálcio atuam como inibidores na formação dos cálculos. Irsay *et al.* (2014) recomendam que pacientes que tenham nefrolitíase não devem diminuir a dieta diária de cálcio, sugerindo, por outro lado, a diminuição da ingestão de alimentos ricos em oxalatos como espinafre, ruibarbo, chá preto/verde, pão, chocolate, entre outros alimentos. Para os autores citados acima, a formação dos cálculos relaciona-se mais com fatores ambientais e alimentação do que a dureza da água.

Por outro lado, de acordo com Bellizi *et al.* (1999) e Mirzazadeh *et al.* (2012), a ingestão de água dura entre as refeições aumenta tanto a concentração de cálcio na urina quanto a relativa supersaturação do oxalato de cálcio. Para Bellizi *et al.* (1999) os pacientes que já tiveram cálculos de oxalato de cálcio devem evitar a ingestão de água com altas concentrações de cálcio e magnésio.

Mirzazadeh *et al.* (2012) analisaram a urina de dois grupos distintos de pacientes, um de homens que já tiveram cálculos renais e outro de homens que não tem a doença. Durante uma semana, ambos os grupos consumiram água leve, água moderada da torneira e água dura, com mais de 120 mg/L de $\text{Ca}^{2+}_{(aq)}$, $\text{Mg}^{2+}_{(aq)}$ e $\text{Fe}^{2+}_{(aq)}$ em períodos de 2 dias para cada tipo de água.

Os pacientes que já tiveram cálculos, ao consumir água dura, tiveram um aumento pouco expressivo na excreção de cálcio, enquanto que o grupo que não tem a

doença, não se observou nenhuma alteração nos resultados. Em relação ao magnésio, os pacientes que nunca tiveram cálculos renais excretaram uma quantidade significativa de Mg comparado com o grupo que apresenta a doença (MIRZAZADEH *et al.*, 2012). Segundo os autores, ao contrário do cálcio, o magnésio tem função inibidora na formação dos cálculos, devido à sua maior solubilidade, sendo, portanto, um importante fator no desenvolvimento dos cálculos quando há pouca quantidade dele no organismo.

Do ponto de vista geológico, podemos aplicar conhecimentos relacionados à geomicrobiologia, onde a formação e crescimento dos cálculos está relacionado ao processo de organomineralização, ou seja, um processo de cristalização que pode ser induzido ou influenciado por bactérias (DUPRAZ *et al.*, 2008). A mineralização biologicamente induzida, segundo os autores, resulta da interação direta das atividades biológicas e o ambiente. Na mineralização influenciada por bactérias, os principais fatores que controlam as condições de precipitação são os ambientais, ou seja, a mineralização da matéria orgânica ocorre de forma passiva, servindo apenas como substrato para a precipitação.

Tradicionalmente, apenas estruvitas e algumas apatitas com carbonato eram relacionadas a infecção, onde as bactérias são responsáveis pela produção de fosfato. Entretanto, nanobactérias foram indicadas como os agentes de nucleação dos cálculos, baseado na difundida ocorrência delas nos cálculos e na formação *in vitro* de cálculos de apatita na presença de nanobactéria (ALOISI, 2008).

Nanobactérias, também denominadas de nanopartículas calcificadas (CNP), de acordo com Aloisi (2008), são pequenas partículas de fosfato de cálcio (apatita) cobertos por entidades orgânicas, propostas como sendo os menores organismos vivos. Além de ocorrer na maioria dos cálculos, elas também são observadas em outros materiais humanos e animais, assim como em sedimentos e rochas.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram analisadas 160 amostras de cálculos renais provenientes principalmente do Ambulatório de Nefrolitíase do Centro de Pesquisas Nefrológicas do Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Paraná (HC-UFPR), obtidas de pacientes com idade maior ou igual a 18 anos, no período de 2012 a 2016. Todos os pacientes selecionados consentiram com a utilização dos cálculos para a pesquisa, e a seleção destes pacientes foi feita através do diagnóstico de nefrolitíase por exames de imagens que comprovaram a possibilidade de fornecimentos de amostras para análise.

Todas as amostras são obrigatoriamente higienizadas após a cirurgia no hospital com formol ou álcool 70 e só então enviadas para análise no Laboratório de Análises de Minerais e Rochas (LAMIR) do Departamento de Geologia da Universidade Federal do Paraná.

A primeira etapa para a identificação é a descrição das características morfológicas e o registro fotográfico dos cálculos renais e em seguida, inicia-se o processo de preparação das amostras, cujo pó pulverizado é utilizado nas análises químicas, mineralógicas e isotópicas, como descritas a seguir.

3.1 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras são primeiramente secas por 24 horas na mufla, a 50°C e depois são pulverizadas com um pistilo em gral de ágata num intervalo de 3 a 5 minutos cada amostra, dependendo do tamanho e quantidade de material até atingir granulometria de 5 μ m (Figura 3.1.1).

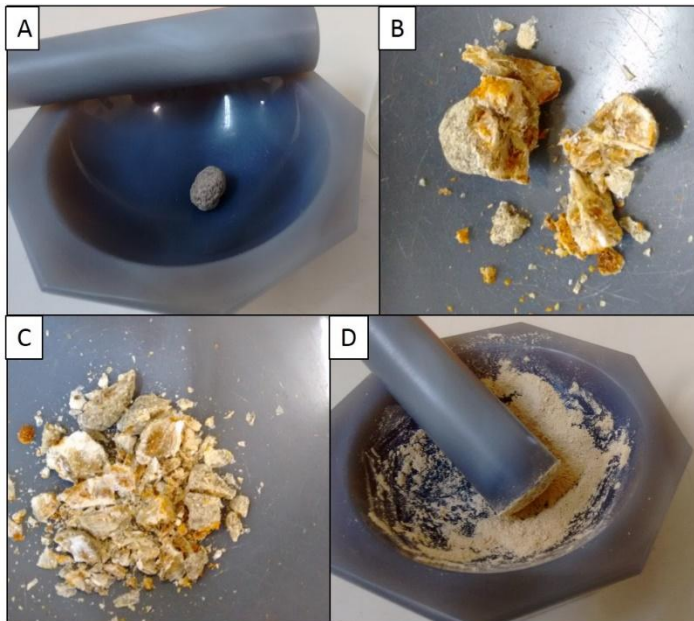


Figura 3.1.1 – Etapas de preparação dos cálculos. Na etapa (A) tem-se a amostra inteira no interior do gral de ágata. Etapas (B) e (C) correspondem à pulverização parcial do cálculo e a etapa (D) mostra o cálculo totalmente pulverizado, com granulação muito fina.

3.2 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA

Na descrição macroscópica dos cálculos, observam-se aspectos como cor, tamanho, hábito, textura, estrutura, porosidade e dureza, com a utilização de lupa e canivete. As cores descritas para os cálculos são similares àquelas empregadas na descrição de minerais e rochas, e o tamanho estimado é descrito em centímetros ou milímetros, ainda que a maioria esteja fragmentado em dois ou mais pedaços.

A estrutura relaciona-se à forma da amostra, ou seja, o grau de arredondamento e esfericidade (Figura 3.2.1) e se ela é homogênea, apresentando apenas uma cor, sem variações de estrutura e textura, ou heterogênea, com diferentes características num mesmo cálculo ou fragmento deste.

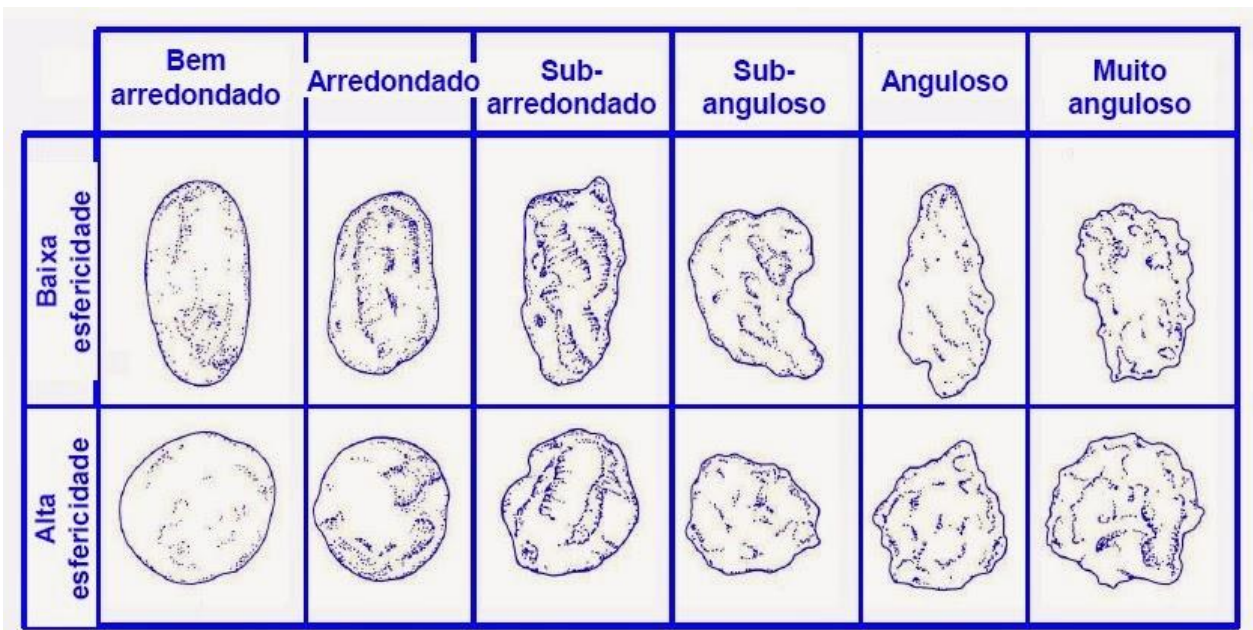


Figura 3.2.1 – Grau de arredondamento e esfericidade das partículas. No eixo horizontal há um decréscimo do grau de arredondamento da esquerda para a direita e no eixo vertical há aumento de esfericidade do topo para a base. FONTE: Modificado de SANTOS, M.J. (2016).

A textura diz respeito se a amostra é lisa ou formada por um agregado de cristais, que podem ser na forma arredondada, alongada ou acicular, ou seja, a forma dos cristais pode ser analogamente relacionada ao hábito, um dos aspectos descritos na maioria dos minerais que ocorrem na natureza, como hábito granular, mamelonar, botrioidal, acicular, entre outros.

A porosidade é classificada como nula, baixa, média ou alta de acordo com a estimativa do volume de poros do cálculo. A dureza relativa dos cálculos é baseada na Escala de Dureza de Mohs (Tabela 3.2.1), cujo valor é inferido riscando-os com a unha e com o canivete, onde cálculos que podem ser riscados pela unha tem dureza igual ou inferior a dois, cálculos que não são riscados pela unha, mas são pelo canivete tem dureza entre 2 e 5,5 e cálculos que não podem ser riscados pelo canivete tem dureza maior ou igual a 5,5.

Tabela 3.2.1 – Escala de Dureza de Mohs. Na primeira coluna tem-se a escala relativa, que varia de 1 a 10, na segunda coluna tem-se os respectivos minerais e fórmulas químicas e a última coluna representa a escala absoluta correspondente a cada mineral. FONTE: Graça Porto (2016).

Escala de Mohs	Mineral	Dureza Absoluta
1	Talco ($Mg_3Si_4O_{10}(OH)_2$)	1
2	Gipsita ($CaSO_4 \cdot 2H_2O$)	3
3	Calcita ($CaCO_3$)	9
4	Fluorita (CaF_2)	21
5	Apatita ($Ca_5(PO_4)_3(OH, Cl, F)$)	48
6	Feldspato Ortoclásio ($KAlSi_3O_8$)	72
7	Quartzo (SiO_2)	100
8	Topázio ($Al_2SiO_4(OH, F)_2$)	200
9	Coríndon (Al_2O_3)	400
10	Diamante ('C)	1500

Para cada amostra são feitas fotografias na escala mesoscópica com câmera fotográfica comum e na escala microscópica, com lupa de luz polarizada, de até 100x aumento, modelo *Discovery V.12*, cuja captura de imagem é feita pelo software *Axio Vision*.

3.3 ANÁLISE MINERALÓGICA

A análise mineralógica é realizada a partir da técnica de Difractometria de raios X (DRX), empregada em todas as amostras analisadas. Após a pulverização dos cálculos em gral de ágata, são confeccionadas lâminas de pó e pastilhas prensadas (Figura 3.3.1 A e B), que são analisadas pelo difratômetro da marca *PANalytical*, modelo *Empyrian* com detector *X-Celerator* e linha de emissão $CuK\alpha = 0,154060$ nm (Figura 3.3.1 C).

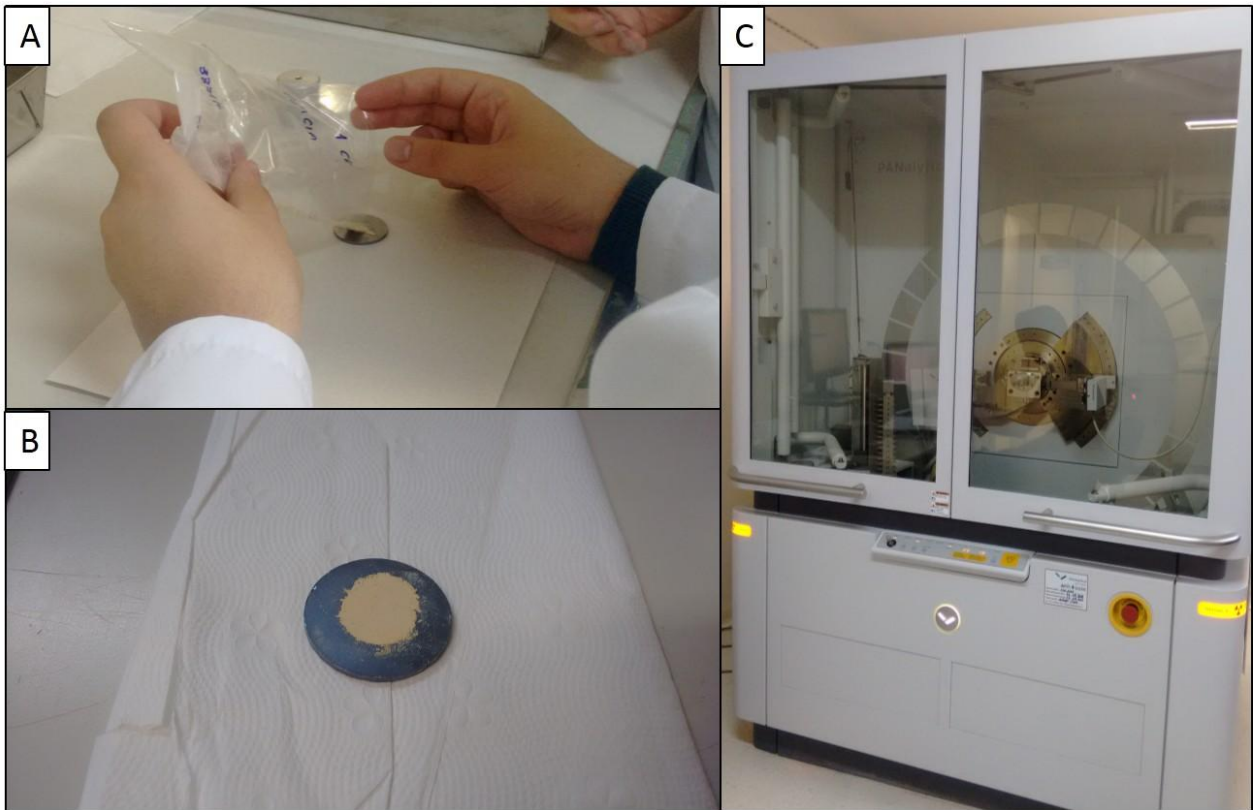


Figura 3.3.1 – A) Preparação da amostra pulverizada no porta amostra; B) Porta amostra com o pó de amostra compactada e C) Difratorômetro *PANalytical*, modelo *Empyrian* com detector *X-Celerator*.

Os dados obtidos são processados e resultam em gráfico denominado de difratograma, cuja interpretação é feita pelo software *X'Pert Highscore Plus*, marca *PANalytical*, cujo resultado é a identificação e a indicação das porcentagens de cada mineral presente na amostra.

A técnica de difração de Raios X consiste na incidência da radiação em uma amostra e na detecção dos fótons difratados pelos átomos dos minerais. (GOBBO, 2009). Esse fenômeno, denominado de difração, acontece porque os minerais têm arranjo atômico altamente ordenado e os átomos estão separados entre si por distâncias interplanares da mesma ordem de grandeza dos comprimentos de onda dos raios X. A difração de raios X ocorre nas direções de espalhamento que satisfazem a Lei de Bragg (equação 1), que estabelece a relação entre o ângulo de difração θ e a distância entre os planos que a originam. (GOBBO, 2009).

$$\lambda = 2d\text{sen}(\theta) \quad (1)$$

De acordo com Gobbo (2009), o feixe difratado, transformado pelo detector em forma de contagem de pontos é normalmente expresso através de picos, que constitui o difratograma. As informações obtidas de cada pico são a intensidade, a posição angular (2θ) ou a distância interplanar (d) e o perfil. Cada composto cristalino apresenta um padrão difratométrico característico, permitindo sua identificação através das posições angulares e intensidades relativas dos picos difratados.

3.4 ANÁLISE QUÍMICA

A análise química é feita através da técnica de Fluorescência de raios X (FRX), onde tem-se a análise semiquantitativa dos óxidos maiores, para a qual foram separadas amostras com espécies minerais diferentes, previamente analisadas na Difractometria de raios X, num total de cinco amostras.

As leituras são realizadas através da técnica de amostra diluída, devido à pouca quantidade de material em cada amostra. As pastilhas são feitas com a mistura de 1,4 gramas de cera orgânica, 6,65 gramas de ácido bórico e 0,35 gramas de amostra, prensadas na Prensa PFAFF no programa 3 do equipamento, cujo tempo de constituição é 60 segundos (Figura 3.4.1 A). As pastilhas são então analisadas no equipamento AXIOS MaX DY 5297 (Figura 3.4.1.B) e as leituras dos resultados são feitos no software SuperQ manager PANalytical versão 5.0L 5.2187.3.

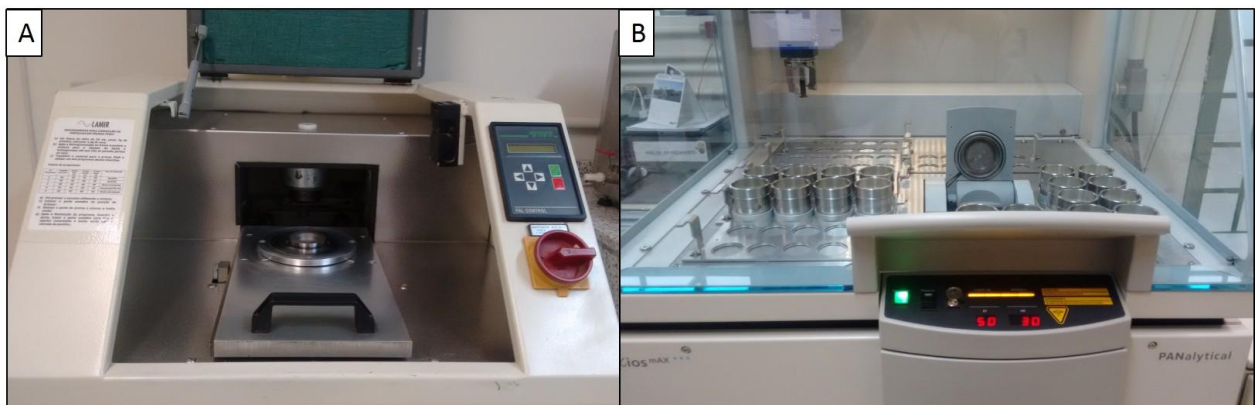


Figura 3.4.1 – A) Prensa PFAFF onde são feitas as pastilhas e B) Equipamento AXIOS MaX DY 5297 onde é feita a leitura dos feixes espectrais das amostras.

No processo de fluorescência é emitido um feixe de raios X na amostra, excitando os átomos dos minerais presentes, que ao retornar ao estado energético original emitem linhas espectrais com energias e comprimentos de onda característicos do elemento e cujas intensidades estão relacionadas com a concentração dos minerais. (SANTOS *et al.*, 2013).

3.5 ANÁLISE ISOTÓPICA

Na análise isotópica dos isótopos estáveis de ^{13}C e ^{18}O utilizou-se 18 amostras, analisadas através do Espectrômetro de Massa *Thermo-Scientifique*, modelo *Delta V Advantage Isotope Ratio MS* acoplado a um sistema *Gas Bench 2* (Figura 3.5.1 A), cuja leitura dos dados é feito pelo *software Isodat*. A finalidade dessa análise é verificar se há diferenças isotópicas nas amostras a partir do enriquecimento ou depleção dos isótopos, mostrando que há a possibilidade da alimentação e a origem da água ingerida influenciarem na formação dos cálculos ou ao menos interferirem nos resultados isotópicos.

A preparação das amostras inicia-se com a secagem prévia na estufa à 40°C por pelo menos 24 horas. Após esse tempo, é coletado cerca de 5 miligramas de amostra com uma pinça e colocado num tubo de ensaio de vidro, vedado com tampa e septo de borracha (Figura 3.5.1 B). Em seguida é feito a técnica do *flush*, que consiste na descarga de hélio em cada amostra por 8 minutos com a finalidade de remover todo o ar atmosférico dentro do tubo.

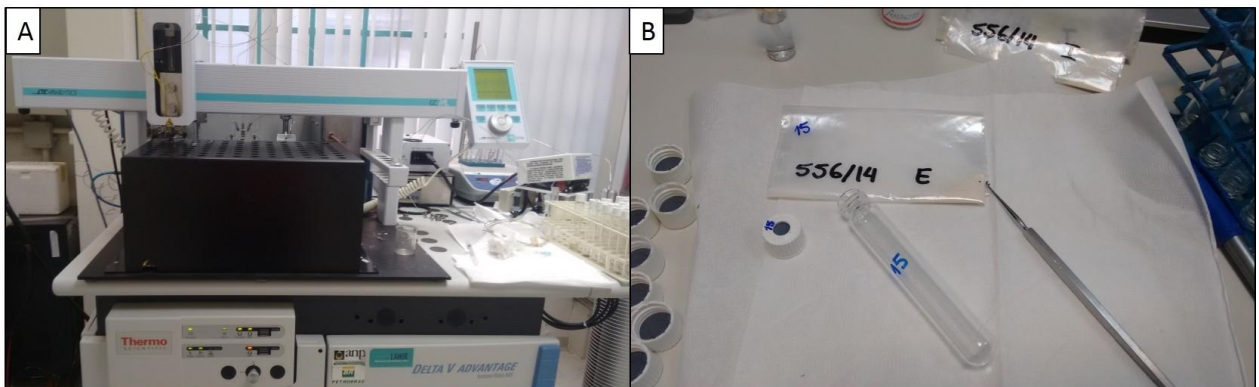


Figura 3.5.1 – A) Espectrômetro de Massa *Thermo-Scientifique*, modelo *Delta V Advantage Isotope Ratio MS* e B) Materiais de preparação das amostras para análise isotópica.

A etapa seguinte é injetar ácido fosfórico (H_3PO_4) nas amostras para reagir com os minerais que possuam carbono e oxigênio na sua fórmula química, de modo que haja a liberação do CO_2 . O CO_2 liberado passa por um filamento de tungstênio que o deixa ionizado e dependendo do isótopo presente nesse gás, a massa molar irá variar, normalmente de 44 a 46. Quanto mais pesado os isótopos presentes, maior será a massa molar do CO_2 e mais ele irá defletir.

O receptor irá quantificar as defleções específicas para cada tipo de massa e assim determinar o número de moléculas com aquela determinada massa. A molécula de CO_2 mais comum na natureza tem 44 (isótopo leve), por isso é usado como padrão. Dessa forma, os isótopos cujas massas sejam diferentes são divididas pelo valor padrão, resultando num desvio, denominado de δ , em valores de ‰, através da fórmula. (CAXITO e SILVA, 2015):

$$\delta = [(R_{\text{amostra}} - R_{\text{padrão}}) / R_{\text{padrão}}] * 1000$$

Onde R_{amostra} é a razão isotópica da amostra e $R_{\text{padrão}}$ é a razão de referência do laboratório, calibrado num padrão internacional. Isótopos de carbono são referenciados contra o padrão *PeeDee Belemnite* (PDB) de um Belemnita do Cretáceo nos Estados Unidos e isótopos de oxigênio são referenciados ao *Standard Mean Ocean Water* (SMOW). O prefixo V quando adicionado às siglas significa que o valor utilizado é o mesmo determinado pela *International Atomic Energy Agency* (IAEA), em Viena, Áustria. (CAXITO e SILVA, 2015). Portanto, juntamente com as amostras, é feito também a leitura de padrões (NBS 19 e NBS 18) já estabelecidos em $CaCO_3$ afim de normalizar os resultados.

As razões isotópicas de carbono e oxigênio dos cálculos podem refletir a alimentação e hidratação do indivíduo, dessa forma, o tipo de alimentação e a proveniência geográfica da água, da carne animal e dos alimentos ingeridos por esses animais refletem resultados isotópicos diferentes para cada paciente. Além disso, dentro do organismo animal, cada passo da cadeia alimentar é acompanhado por um enriquecimento nos isótopos pesados na biomassa, enquanto que os leves são catabolizados. (CAXITO e SILVA, 2015). De acordo com esses autores, esse

enriquecimento isotópico acontece porque os átomos de hidrogênio e oxigênio da água ingerida adicionam-se a dos alimentos, da água alimentar e do oxigênio molecular.

Krouse e Levinson (1983) analisaram dados isotópicos de carbono e enxofre em cálculos provenientes de toda a América do Norte e México, e verificaram valores diferentes dependendo da posição geográfica dos pacientes envolvidos e do tipo de fotossíntese que as plantas ingeridas por esses indivíduos produzem. De acordo com esses autores, nas latitudes mais altas, predominam plantas lenhosas que fazem fotossíntese do tipo C₃, cujos valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ variam de -20 a -30 ‰, nos trópicos predominam plantas do tipo C₄ como a cana-de-açúcar, milho e gramíneas, cujos valores de $\delta^{13}\text{C}$ variam de -10 a -15 ‰ e no México predominam plantas cuja fotossíntese é do tipo CAM, como cactos e plantas suculentas, onde os valores de $\delta^{13}\text{C}$ são ainda menos negativos.

Os resultados isotópicos da flora na América do Norte são semelhantes aos resultados observados nos cálculos de oxalato, onde nota-se um enriquecimento de ^{13}C com a diminuição da latitude, ou seja, valores mais negativos indicam uma população que consome plantas do tipo C₃, enquanto que valores menos negativos refletem uma população que consome mais plantas do tipo C₄. (KROUSE e LEVINSON, 1983).

Diferentemente dos resultados obtidos nos oxalatos de cálcio (Whewellita e Weddelita), os resultados dos cálculos de ácido úrico apresentam-se enriquecidos em $\delta^{13}\text{C}$, com valores entre +3 e +7‰; já os cálculos de cistina apresentam valores isotópicos de $\delta^{34}\text{S}$ de 0 até +18 ‰, cujo enxofre pode ter se originado a partir da ingestão de componentes organo-sulfurosos. (KROUSE E LEVINSON, 1983).

4. RESULTADOS – Os principais resultados do TCC foram organizados na forma de artigo o qual será submetido à Revista *Brazilian Journal of Geology*.

A GEOLOGICAL VIEW OF KIDNEY STONES

Uma visão geológica sobre os cálculos renais

Isis Armstrong Dias¹, Maurício de Carvalho², Nikolas Kim², Rafael Cavalheiro Cavalli², Anelize Manuela Bahniuk Rumbelsperger¹, José Manoel dos Reis Neto (*In memoriam*).

¹Laboratório de Minerais e Rochas, Campus Centro Politécnico, Universidade Federal do Paraná – LAMIR-UFPR, Curitiba (PR), Brazil. E-mail: armstrong.oi.dias@gmail.com, anelize.bahniuk@ufpr.br.

²Hospital das Clínicas, Universidade Federal do Paraná – HC-UFPR, Curitiba (PR), Brazil. E-mail: carvalho@mais.sul.com.br, nikolaskim@gmail.com, rafaelcavalli@yahoo.com.br.

ABSTRACT

Kidney stones are formed in the urinary system by urinary supersaturation, pH, diet, genetic, water hardness, bacterial influence in human organism, and other factors. The most common minerals in kidney stones are calcium oxalates (Whewellite and Weddellite), calcium phosphates (apatite group, whitlockite and brushite), besides struvite and chemical compounds such as cystine and uric acid. The purpose of this study is associate morphological and mineralogical characteristics of kidney stones in order to simplify their identification process and verify the influence of a person's diet and water intake in stone formation. We have studied 160 samples from *Hospital das Clínicas* of Curitiba-PR and the analyses were done at *Laboratório de Análises de Minerais e Rochas* (LAMIR). X Ray Diffraction (XRD) results have indicated that 11% of stones are polymineralic; 35% are bimineralic and 54% are monomineralic. The whewellite stone represents 64% of the samples, 14% are uric acid and 10% are struvites. Besides these minerals, weddellite, apatite, cystine, whitlockite, and brushite also occur. The chemical composition of some samples obtained by X Ray Fluorescence (XRF) has shown that most of the kidney stones are comprised by calcium phosphates, besides Mg, Na and S. Isotopic analysis has shown $\delta^{13}\text{C}$ values from -23 to -8‰ and $\delta^{18}\text{O}$ values between -12 e -6‰ in different types of kidney stones, indicating that diet and water intake have influence on stone formation.

KEYWORDS: Medical geology, nephrolithiasis, kidney stones, mineralogy.

RESUMO

Cálculos renais são depósitos de minerais formados no sistema urinário devido à supersaturação urinária, pH, hábitos alimentares, hereditariedade, dureza da água, participação de bactérias no organismo, entre outros. Os principais minerais presentes nos cálculos são os oxalatos de cálcio (Whewellita e Weddellita), fosfatos de cálcio (grupo da apatita, whitlockita e brushita), além da estruvita, e compostos orgânicos como a cistina e a uricita. A proposta deste trabalho é associar aspectos morfológicos e mineralógicos a fim de facilitar a identificação dos cálculos e verificar a influência da alimentação e da dureza da água na formação dos cálculos. Esta pesquisa foi realizada com 160 amostras provenientes do Hospital das Clínicas de Curitiba-PR, cujas descrições e análises mineralógicas, químicas e isotópicas foram realizadas no Laboratório de Análises de Minerais e Rochas (LAMIR). Os resultados obtidos da difratometria de raios X indicam que 11% dos cálculos renais são poliminerálicos, 35% são biminerálicos e 54% são monominerálicos. A whewellita representa 64% das amostras analisadas, 14% são ácido úrico e 10% são estruvitas. Ocorrem ainda minerais como: wheddellita, apatita, cistina, whitlockita, brushita e quartzo. A composição química de alguns cálculos, obtida através da Fluorescência de Raios X, mostrou que a maioria deles possuem fosfato de cálcio, além de Mg, Na e S. A análise isotópica mostrou valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre -23 e -8‰ e $\delta^{18}\text{O}$ entre -12 e -6‰ entre os diversos tipos minerais, indicando que há influência da alimentação e da água nos cálculos renais.

PALAVRAS-CHAVE: Geologia médica, nefrolitíase, cálculo renal, mineralogia.

1. INTRODUCTION

Urolithiasis or Nephrolithiasis is the process of kidney stone formation. The etymological origin of word “Nephrolithiasis” is derived from Greek, “nephros= kidney”, “lithos= stone” and “iasis=pathological or morbid condition”, while “urolithiasis” means “ouron= urine”, therefore, “kidney stones” or “urinary stone”, respectively (ETYMOLOGY DICTIONARY, 2016).

Urolithiasis is a very common disease in the world and there are evidences about urinary stone disease since antiquity (Balaji and Mani Menon, 1997). Nowadays, urinary stone disease affects 1% to 5% of population in industrialized countries (about 10 million people in Brazil). The lifetime risk of becoming a patient is about 10% to 20% for men and 5% to 10% for women, of which 50% approximately will get reoccurrence of the disease (Balaji *et al.*, 1997, Peres *et al.*, 2003 and Tiselius H.G., 2011).

Kidney stones are deposits of crystals formed inside urinary system. Even though they are formed organically, kidney stones also are considered minerals based on a wider definition by Klein and Dutrow (2012), who states that despite that minerals are frequently formed by inorganic processes, they also can be produced organically. Some examples are snail shells carbonates and dental/bone apatites.

Despite the great incidence of Urolithiasis/Nephrolithiasis and mineralogical diversity found in kidney stones, the mechanisms of formation and occurrence are not completely understood yet. Kidney stones could be studied by medical and geological perspectives, but there is limited interaction between these areas on an attempt to characterize and distinguish the stone formation mechanisms. Therefore, the application of geological techniques in the research of kidney stones is highly important because the current papers about such subject are only on the medical field.

The purpose of this research is to distinguish the main mineral assemblage on kidney stones and characterize morphological and mineralogical aspects for each group of minerals. Likewise, establishing a relationship between similar morphological aspects with mineralogical and chemical composition obtained from X-ray Diffraction (XRD) and Fluorescence (XRF) in

order to facilitate the identification of the kidney stones. Furthermore, it aims to evaluate if water and food intake have or not influence on stone formation.

2. STATE OF ART

2.1. Types of Stones

Kidney stones are formed mainly by calcium oxalates and phosphates. The Whewellite stone (calcium oxalate mono-hydrate) is the most common kidney stone mineral on literature and also in this survey. The calcium phosphates occur normally as apatite, OH-apatite and F-apatite. However, minerals like whitlockite and brushite also occur. The struvite stone is a specific type of phosphate, which contains magnesium and ammonium. Finally, there are minerals formed by organic compounds, such as uricite (uric acid) and cystine.

2.1.1. CALCIUM OXALATE STONES - $Ca(C_2O_4) \cdot (H_2O)$ (2)

According to Lieske *et al.* (1999), the great majority of kidney stones are composed by calcium oxalates mono-hydrated and bi-hydrated (Whewellite and Weddellite stones, respectively). The main factors for the formation of calcium oxalate stones, accordingly to Balaji e Mani Menon (1997) are the idiopathic hypercalciuria, low urinary citrate, hyperoxalaluria and hyperuricosuria. The idiopathic hypercalciuria is an increase on urinary calcium excretion, which could be caused by increased calcium absorption, renal leak of calcium or increased bone demineralization.

The citrate is an important inhibitor of stone formation; therefore, low urinary citrate contributes to the crystallization of oxalates crystals (Balaji and Mani Menon, 1997). The hyperoxalaluria is caused by deficiency of the renal and alanine enzymes, which enhances the

risks of stone formation and the hyperuricosuria is the excessive ingestion of uric acid by purine, which also contributes for calcium oxalate crystallization (Balaji and Mani Menon, 1997).

2.1.2. *CALCIUM PHOSPHATES STONES - $Ca_3(PO_4)_2(OH, F, Cl, Mg Fe^{2+})$*

According to Balaji and Mani Menon (1997), the calcium stones groups are the second most important group of kidney stones. They occur as apatite, fluorine apatite, hydroxi-apatite, besides others rare minerals such as whitlockite (iron, magnesium and calcium phosphate) and brushite (calcium phosphate dihydrate). Such stones only occur when the chemical pressure for crystallization is high and their formation is associated with renal tubular acidification deficiency (increase in pH), which induces the calcium phosphate supersaturation (Balaji and Mani Menon, 1997).

2.1.3. *STRUVITES - $(NH_4)Mg(PO_4)\cdot 6(H_2O)$*

Struvite stone is also a phosphate which may also contain carbonates, besides magnesium and ammonium. These stones are formed mainly by bacterial urinary infection in alkaline pH conditions (>7.2) and a sequence of chemical reactions which results in ammonium and carbonic acid (Balaji e Mani Menon, 1997).

2.1.4. *URIC ACID STONES OR URICITE - $C_5H_4N_4O_3$*

Uric Acid Stones normally occur in males and they are formed by a mix of factors, such as supersaturation of urine with respect to undissociated uric acid, prolonged periods of acidity (pH 5.5) and low urinary volume, besides diseases such as gout and citotoxicity medication (Balaji and Mani Menon, 1997).

2.1.5. CYSTINE - $C_6H_{12}N_2O_4S_2$

Cystine or L-cystine is defined as organic molecules linked by sulfur, the main compound of this mineral. The cystine stones are formed by cystinuria disease, an autosomal recessive disorder of transmembrane cystine transport manifested in the intestine and in the kidneys. This disease prevents certain individuals to excrete or reabsorb cystine (Balaji and Mani Menon, 1997; Krouse and Levinson, 1983).

2.2. Mechanisms of Stone Formation

There are many mechanisms contributing to the formation of stones or inhibiting their crystallization and depending on the mechanism, each individual could form different types of stones (Branco *et al.* 2009). The stones are formed mainly by calcium oxalates, phosphates, and the whewellite (calcium oxalate monohydrated) is the most common kidney stone mineral on literature and also in this paper. Calcium phosphates occur as variety of apatite, such as hydroxyapatite, fluorapatite, as well as whitlockite, struvite, beyond organic stones formed by uric acid, brushite and cystine.

There is no consensus regarding the formation of kidney stones, but it is believed that the main controls are the supersaturation and crystallization (Balaji and Mani Menon, 1997; Branco *et al.*, 2009). Moreover, external risk factors such as diet, drinking habits, climate, concomitant diseases and medications, as well as genetics are important factors (Tiselius H.G., 2011).

Accordingly Cordua (1996), Balaji and Mani Menon (1997) and Lieske *et al.* (1999), the sequence of events should be saturation of calcium and oxalate ions, supersaturation, nucleation, crystal growth or aggregation, crystal retention and finally stone formation. Furthermore, it is

considered that the stones are a result from not just one nucleation, but many of them (Lieske *et al.*, 1999).

Temperature and pH are important factors in most of the chemical reactions inside of a human organism, however, the pH is clinically more important than the temperature because the it has a stronger influence in the type of stone formed, whereas temperature does not range widely inside human bodies. The majority of kidney stones are formed in alkaline pH. Therefore, by increasing the pH, the solubility of the ions decrease. In contrast, acid uric stones are generated in acid pH, which means that for this type of stones, the solubility and pH increase proportionally.

A questionable hypothesis is that the water hardness influences and/or inhibit kidney stones formation. Following USGS (2016) definition, water hardness is caused mainly by calcium and magnesium compounds as well as other metals, and it can be classified as soft, moderately hard, hard and very hard.

Some authors believe that hard water intake inhibits or decreases the risks of calcium oxalate crystallization. Accordingly Siener *et al.* (2004) and Irsay *et al.* (2014), magnesium and calcium bicarbonate act as inhibitors on stone formation and Irsay *et al.* (2014) advise patients who have nephrolithiasis to not reduce their calcium diet, instead, authors recommend to cut food that is rich in oxalate such as spinach, rhubarb, black and green tea, bread, chocolate, and others. For these authors mentioned above, the stone formation is related with food intake and environmental factors, not with water hardness.

On the other hand, there are surveys suggesting that hard water intake between meals increases calcium concentration in urine and calcium oxalate supersaturation. To Bellizi *et al.* (1999), patients who already have had oxalate stones should not drink high amounts of hard

water. According a research hand by Mirzazadeh *et al.* (2012), patients who have nephrolithiasis drink hard water, have had a statistically significant rise in urinary calcium excretion, while patients without any stone precipitation history did not show the same result.

All studies about the influence of water hardness in stone formation agree that magnesium inhibits the formation of kidney stones because it is more soluble than calcium and when there is a low quantity of magnesium in the organism, there are more risks to form kidney stones (Mirzazadeh *et al.*, 2012; Bellizi *et al.*, 1999; Siener *et al.*, 2004; Irsay *et al.*, 2014). Therefore, hard water could have both negative and positive aspects, depending on its compounds.

The geomicrobiological view could be related with the hypothesis of kidney stones formation be associated to organomineralization, whose crystallization process could be induced or influenced by bacteria (Dupraz *et al.*, 2008). Biologically-induced mineralization results from interaction between biological activity and the environment. In contrast, biologically-influenced mineralization is a passive crystallization of organic matter, whose properties just influence its growth (Dupraz *et al.*, 2008).

Normally just some struvites and apatites stones are related to infectious origin, and the bacteria are responsible for phosphate production. Nevertheless, nanobacteria have been indicated as the nucleating agents of all kidney stones based on their widespread occurrence and on *in vitro* formation of stones such as apatites in presence of nanobacteria (Aloisi, 2008).

Nanobacteria are also called “calcifying nanoparticles” (CNP) and an experiment has shown that when a sulphate-reducing bacteria is immersed in a supersaturated fluid, it produces nanometer-sized organic globules. These globules, accordingly to Aloisi (2008), are evidence for a bacterial origin of the organic nuclei and for a passive mechanism of mineralization. In other

words, there are strong possibilities that the nuclei of kidney stones is formed by biologically-influenced mineralization.

3. SAMPLING AND METHODS

3.1. Sampling

Were analyzed 160 samples of kidney stones from Nephrolithiasis Ambulatory of Federal University of Parana's Clinical Hospital. The samples were obtained from patients above 18 years old, collected during the period of 2012 to 2016. All selected patients consented to the use of kidney stones for this survey and the selection was based on nephrolithiasis diagnostic by image exams.

The samples were previously clean after surgical procedures at Hospital and then they have been sent to Laboratório de Análises de Minerais e Rochas (LAMIR) of the Geology Department of Federal University of Paraná. The first step for kidney stone' identification was the description of morphological characteristics and sample photography. The following step was the pulverization of the samples, which resulted in fine grain material that was used in mineralogical, chemical and isotopic analyzes.

3.2. Methods

The samples were dried for 24 hours and then pulverized in three to five minutes in an agate mortars using pestles until the samples reached a grain size of 5 μ m. The aspects described were color, size, fabric, structure, porosity and relative hardness.

Concerning structure, we have observed the shape, which includes the sphericity and roundness level besides homogeneity and heterogeneity. The fabric consists in describing if the

stone has a smooth surface or if it is formed by an aggregate of crystals. The porosity is classified as null, low, medium or high rate according with the sample's pore volume. The relative hardness is measured based on Mohs Hardness Scale, using fingernail and knife scratching.

The X-ray diffraction (XRD) analysis was conducted to determine the mineral composition of the samples using a *PANalytical Empyrian X-celerator* diffractometer and the minerals were identified using the *X'Pert Highcore Plus* software at LAMIR. In order to determine chemical composition, semi-quantitative compositional analyses of five samples previously analyzed by XRD were obtained using X-ray fluorescence (XRF) energy-dispersive spectrometer (EDS) *AXIOS MaX DY 5297*. The results were interpreted using the *SuperQ Manager PANalytical 5.0L 5.2187.3* software.

The ^{13}C and ^{18}O values of 18 samples were determined using a gas-bench coupled to a *Thermo-Scientifique Delta V Advantage Isotope Ratio MS* mass spectrometer and the results were analyzed on *Isodat* software. The isotopic results are reported in the conventional per mil notation with respect to PeeDee Belemnite (PDB) for carbon and standard mean ocean water (VSMOW) for oxygen. The isotopic analysis aims to verify if there are differences between isotopic results, demonstrating the possibility of diet and hydration having influence in the formation of kidney stones.

Carbon and oxygen isotopic values could reflect the origin of meat and water and the type of food ingested by the original host. Furthermore, each step up in food chain is accompanied by an increase of heavy isotopes on biomass, whereas the light isotopes are catabolized (Caxito and Silva, 2015). According to these authors, the isotopic enrichment happens because the water intake hydrogen and oxygen atoms are added to the atoms from food and molecular oxygen.

Krouse and Levinson (1983) have analyzed $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{34}\text{S}$ values in human kidney stones from North America and Mexico and they have verified different values depending on the geographical location of the patients involved and the kind of photosynthetic mechanism (C_3 , C_4 and CAM) of the plants ingested by these patients. According to Krouse and Levinson (1983), the mean $\delta^{13}\text{C}$ values in oxalate stones from North America become less negative with the decreasing latitude and the same result was observed on $\delta^{13}\text{C}$ values of plants.

In contrast to the results obtained from calcium oxalates (Whewellite and Weddellite), the uric acid stone results have shown enriched ^{13}C by up to +7‰. Cystine stones have shown $\delta^{34}\text{S}$ values from 0 to +18 ‰, whose sulfur could be derived from ingested organo-S compounds, which is probably originated from sulphate in the hydrosphere at lower levels in the food chain, such as bacterial assimilation (Krouse and Levinson, 1983).

4. RESULTS

4.1. Mineralogical Features

4.1.1. MONO, BI AND POLYMINERALIC CLASSIFICATION

The 160 samples were firstly classified into three groups based on the mineral percentage, whose results were obtained by X Ray Diffraction (XRD). Results from XRD have shown that almost 54% of kidney stones are monomineralic; 34% are bimineralic and finally 11% of those are composed by three or more minerals, which are denominated as “polymineralic”. Samples have been classified as Monomineralic if they present 90% of dominance of a single mineral. Therefore, a sample whose result *e.g.* is 89% of mineral A and 11% of mineral B, it is considered bimineralic. The **Figure 1** shows the distribution of the minerals based on the type of occurrence.

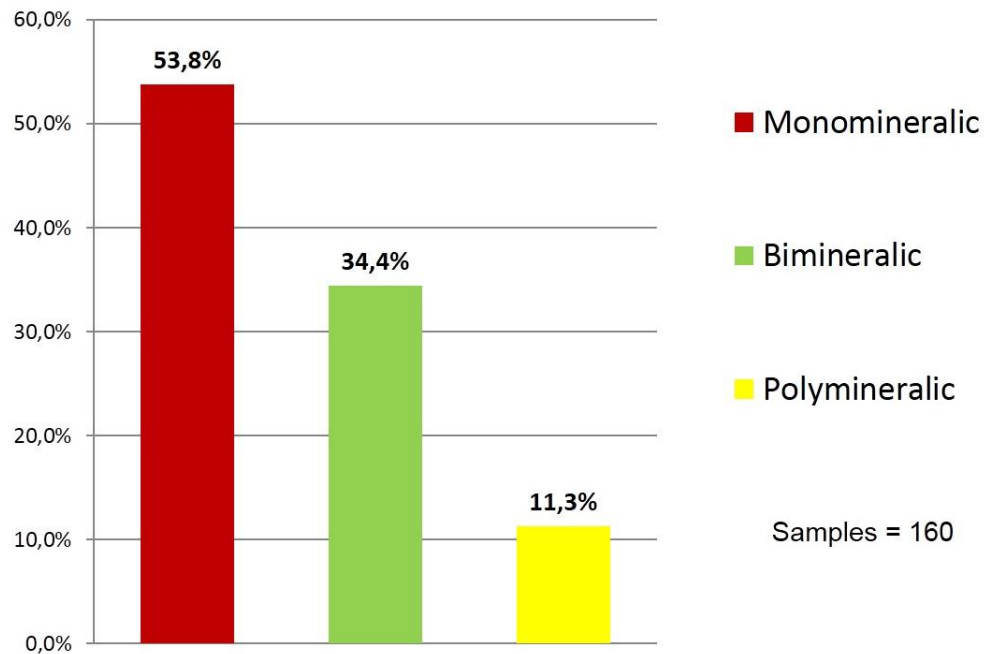


Figure 1 - Kidney Stones classification on the basis of their mineral diversity (results obtained by XRD).

4.1.2. MINERALOGICAL COMPOSITION

Eleven types of minerals have been recognized in these kidney stones; the appendix 1 shows all results since 2012 by XRD technique. The main minerals recognized were whewellite, weddellite, struvite, uric acid, apatite, whitlockite, brushite, and cystine. According to the classification regarding the quantity of minerals in each stone, the mineralogical composition was divided into monomineralic, bimineralic and polymineralic groups.

Among monomineralic samples, seven minerals have been identified. According to the **Figure 2**, whewellite stone is the main identified mineral (64%), followed by uric acid stones (14%) and struvite stones (10%).

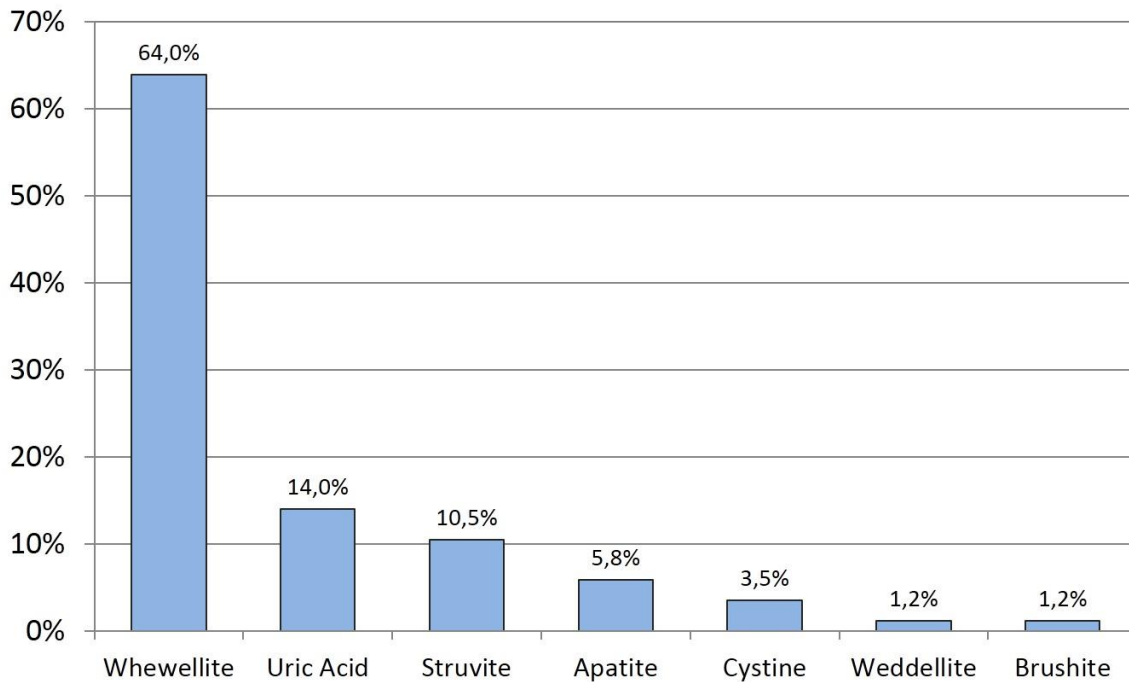


Figure 2 - Mineralogical composition of monomineralic kidney stones.

The mineralogical composition of the bimineralic stones is described in appendix 2. The main pair identified, with more than 30% of occurrence, is formed by the two types of calcium oxalate studied in this paper (whewellite and weddellite), followed by pairs of whewellite and other minerals as well as struvite and apatite pair, with 20% of occurrence (**Figure 3**). The composition of each pair is detailed in **Figure 4**, showing the percentage of each mineral in their related pairs.

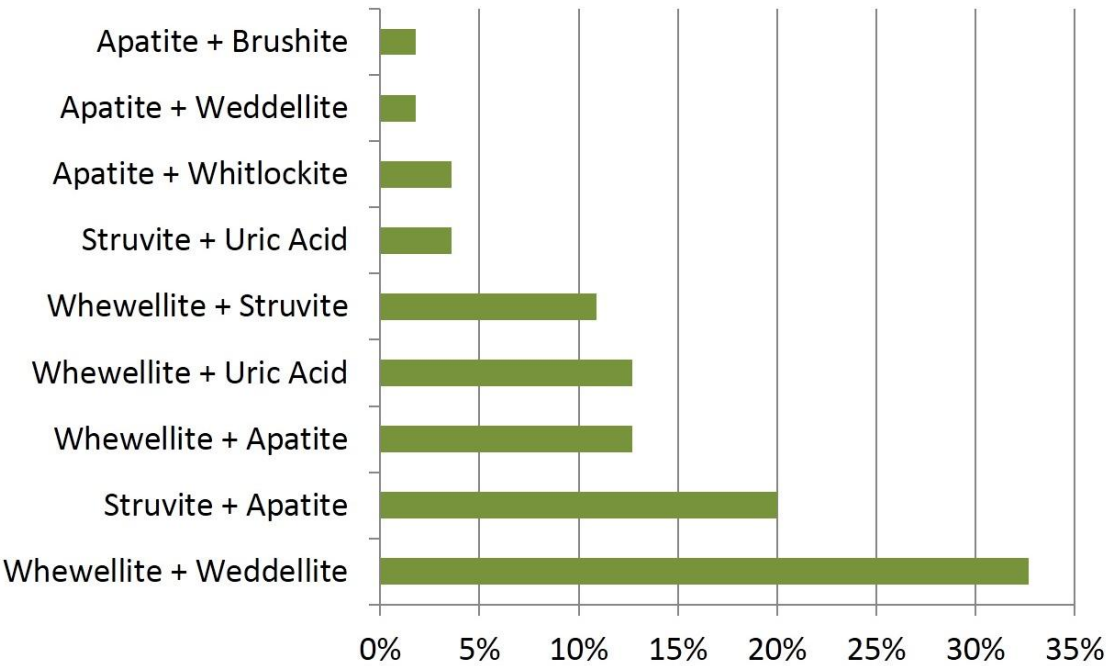


Figure 3 - Proportion of the bimineralic stones pairs and their main minerals.

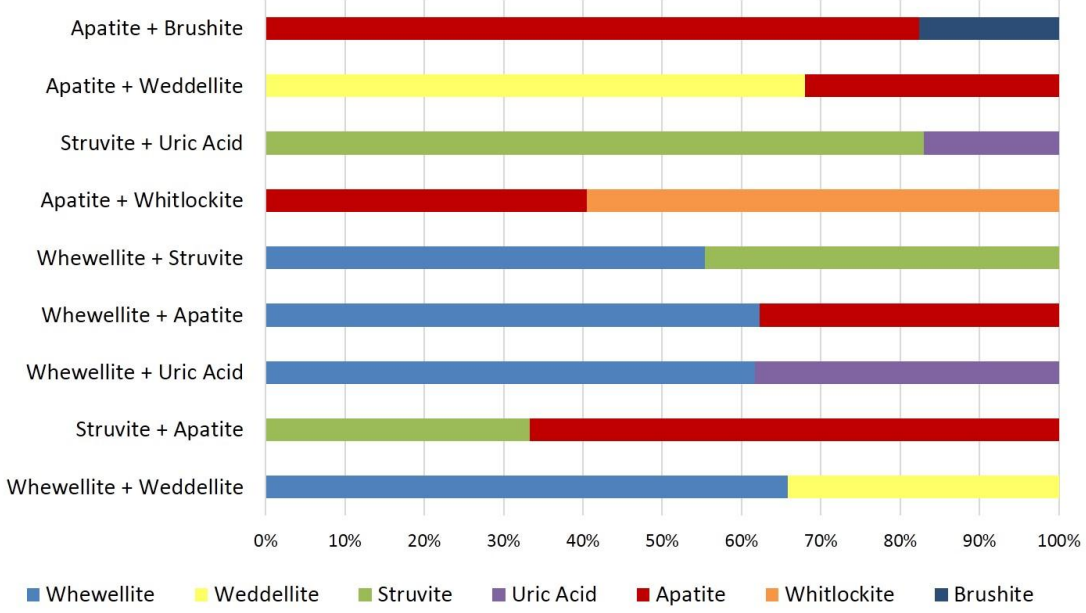


Figure 4 - Percentage of each mineral in bimineralic kidney stones pairs.

The third group corresponds to polymineralic kidney stones, formed by at least three minerals. The mineralogical composition is described in **table 1**. It is possible to identify ten different minerals, prevailing whewellite and apatite minerals.

Table 1 - Mineralogical composition of polymineralic kidney stones.

Sample	Mineralogical Composition									
	Whewellite	Weddellite	Struvite	Uric Acid	Apatite	Whitlockite	Quartz	Plagioclase	Calcite	Brushite
029/12 - E	46%	25%			29%					
029/12 - F	70%	22%			9%					
029/12 - H	52%		31%		17%					
029/12 - I	34%		39%		27%					
253/12 - E	57%	34%								9%
509/12 - B	28%		30%		42%					
509/12 - H	42%		34%		25%					
080/13 - G	12%				10%					78%
438/13 - B	24%		10%	65%						
438/13 - I	8%	7%	12%	73%						
022/14 - A	57%				27%	16%				
022/14 - B	55%		26%		19%					
022/14 - H	66%	3%		31%						
556/14 - N	35%	52%			13%					
556/14 - P	20%						58%	16%	6%	
234/15 - V	81%	6%			13%					
387/16 - A	47%	17%			36%					
387/16 - F	18%		42%		39%					

There is a kidney stone sample composed by quartz, plagioclase, calcite and whewellite. This is the only kidney stone which contains these type of minerals, however they do not appear in the charts because they are not representative.

4.2. Morphological Aspects

The mineralogical characterization of kidney stones was performed by describing aspects such as color, size, fabric, structure, porosity and hardness level, as well as “zonation”, in

a few samples which contain such characteristic. The key features of each mineral group will be summarized below.

4.2.1. WHEWELLITE

The whewellite stones do not show similar features regarding to any of the aspects described, as shown in **Figure 5**. When the samples are composed entirely by whewellite mineral, they often exhibit a dark brown to a black color on the surface, a medium to high level of roundness and sphericity and they normally are formed by an aggregate of crystals, which can be either elongated or round.

When other minerals are combined with Whewellite, the samples show a light brown color and almost all of them have low to medium level of sphericity and roundness. In these cases, there is no prevalence with respect to fabric; in other words, some samples are formed by an aggregate of minerals whereas others have a smooth surface. Overall, whewellite stones show low to medium porosity level and relative hardness ranging from 2.5 to 3.0, furthermore, “zonation” is rarely observed.

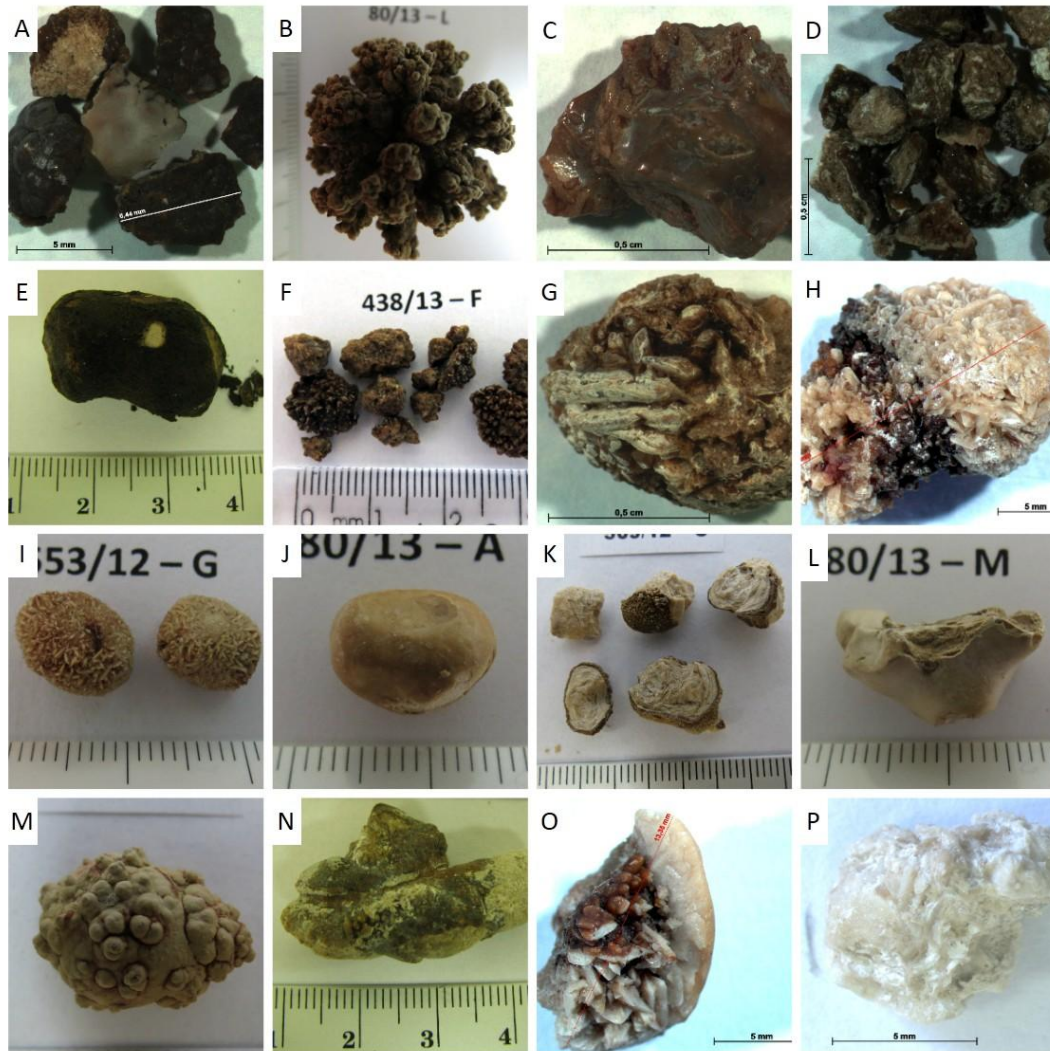


Figure 5 - Template showing images of whewellite minerals, demonstrating the morphological difference of their occurrences. The kidney stones of the images from (A) to (G) are comprised by 100% of whewellite mineral, whereas the stones of the images from (H) to (P) decrease the quantity of whewellite.

4.2.2. WEDDELLITE

Weddellite stones occur mainly mixed with Whewellite. They normally exhibit a white brownish to light brown color, size (less than 1 centimeter) and their fabric is characterized as an aggregate of elongated crystals (**Figure 6**). Regarding to structure, the samples are homogeneous and show low sphericity and low to medium roundness. Their porosity level, defined by pore volume, is high and their relative hardness is of about four.

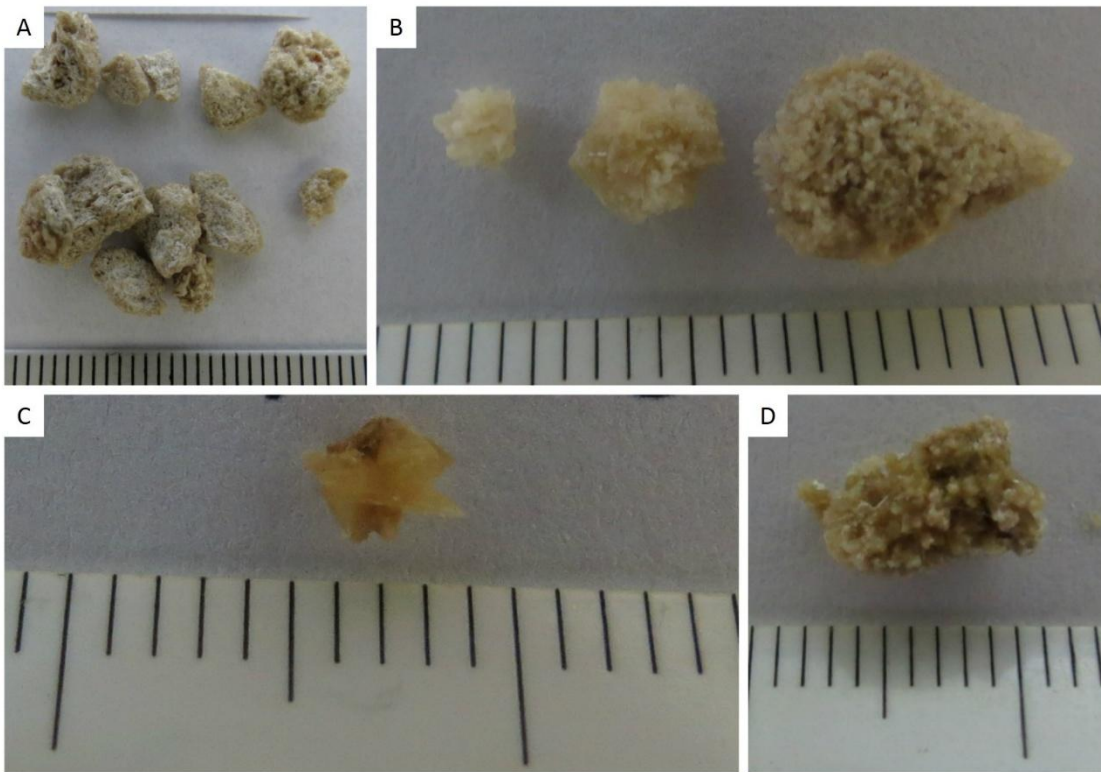


Figure 6 - Template showing images of weddellite minerals. All of the samples are bimineralic. The image (A) is composed by 70% of weddellite and 30% of apatite and the images (B), (C) and (D) are composed by approximately 75% of weddellite and 25% of whewellite.

4.2.3. STRUVITE

Struvite stones often exhibit a white to white brownish color and dimensions larger than 1 centimeter (**Figure 7**). Their surface is commonly flat, their levels of roundness and sphericity are medium and low, respectively, their porosity level is low and the samples are heterogeneous.

Although a white color and a smooth surface prevails in these samples, small areas with different colors and shapes are observed and inside some stones there are concentric “zonations” emphasized mainly by the alternance of colors. Their hardness ranges about 1.5 to 2.

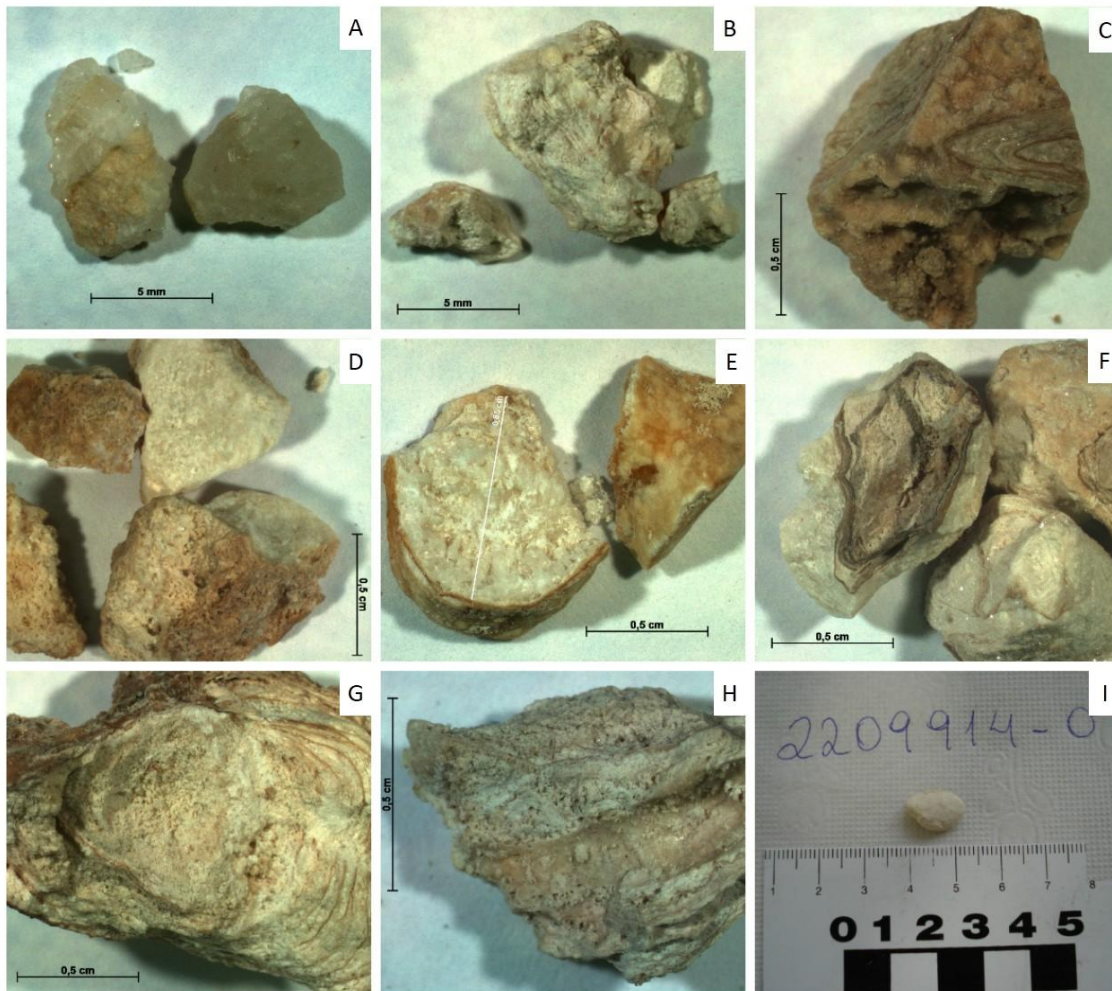


Figure 7 - Template showing images of struvite minerals. The kidney stones are composed by 100% of struvite mineral and even though the same composition, the samples show morphological differences between them.

4.2.4. APATITE

Apatite stones usually occur combined with other minerals, but even when there is a dominance of apatite, similar features can not be seen (**Figure 8**). Their color varies from light brown to dark gray, their levels of roundness and sphericity range from medium to high, and it is not possible to determine their main fabric because they exhibit flat surfaces and aggregates of crystals in the same sample.

Their porosity level goes from low to medium and concentric “zonations” occur, emphasized mainly by the alternance of colors, which shows that apatite stones are highly heterogeneous. Their relative hardness is about 5 to 5.5.

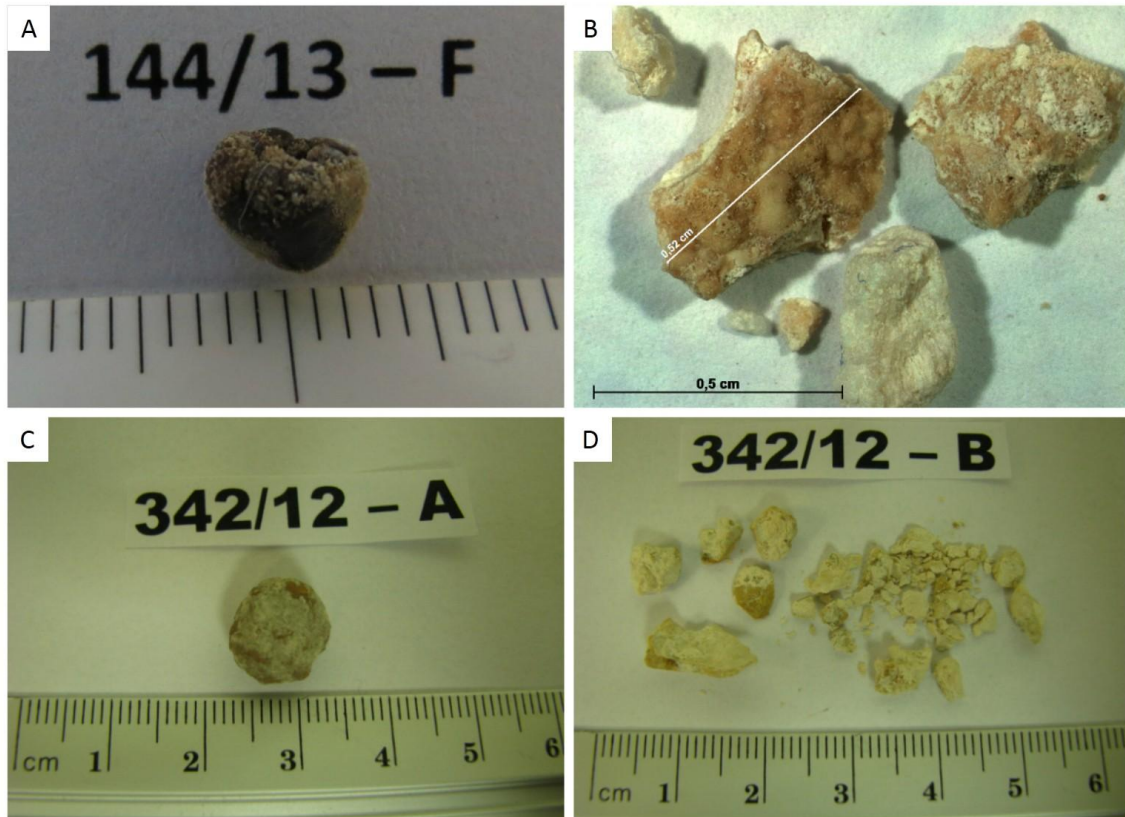


Figure 8 - Template showing images of apatite minerals. The kidney stones are composed by 100% of apatite mineral and even though the same composition, the samples show morphological differences between them.

4.2.5. *WHITLOCKITE*

Whitlockite stones are very rare and they are similar with apatite stones. Some samples show a distinctive orange color whereas others show a combination of white and orange colors; their levels of roundness and sphericity are low and medium, respectively. Their fabric is mainly flat but there are areas with different colors and shapes, besides concentric “zonation” emphasized by the alternance of colors, showing, therefore, a heterogeneous structure. Their

porosity level is medium and their relative hardness is about five, similar to apatite stones (**Figure 9**).

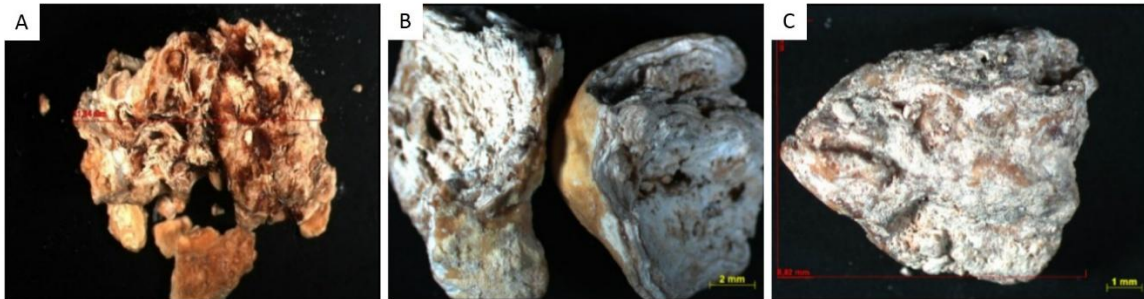


Figure 9 - Template showing images of whitlockite minerals. The kidney stone of the image (A) is more orange than the other stones in this template and it has about 80% of whitlockite mineral, and the stones of the images (B) and (C) have less than 40% of whitlockite mineral.

4.2.6. BRUSHITE

Brushite stones are also very uncommon, the samples are white, on their surface aggregates of crystals occur but flat surfaces can be observed too. Their roundness and sphericity levels are low and overall they are homogeneous despite that concentric “zonation” could be identified in some samples. Their porosity level is high and their relative hardness is 2.5 (**Figure 10**).

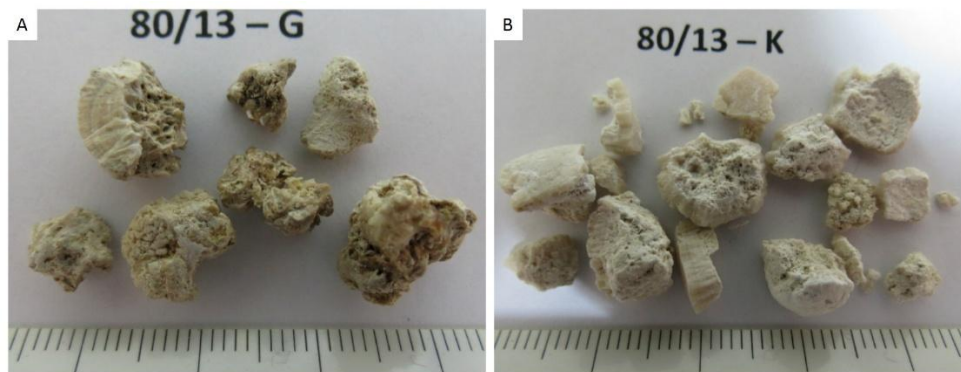


Figure 10 - Template showing images of brushite minerals. The kidney stone of the image (A) is composed by 78% of brushite, besides apatite and whewellite. The stone of the image (B) is composed by 97% of brushite and 3% of apatite.

4.2.7. URIC ACID

Uricite or uric acid is usually light brown or slightly orange. When not fragmented, their roundness and sphericity levels are frequently high and a smooth surface predominates. Overall, the stones are homogeneous, their porosity level is low and their relative hardness is about 1 to 2 (**Figure 11**).

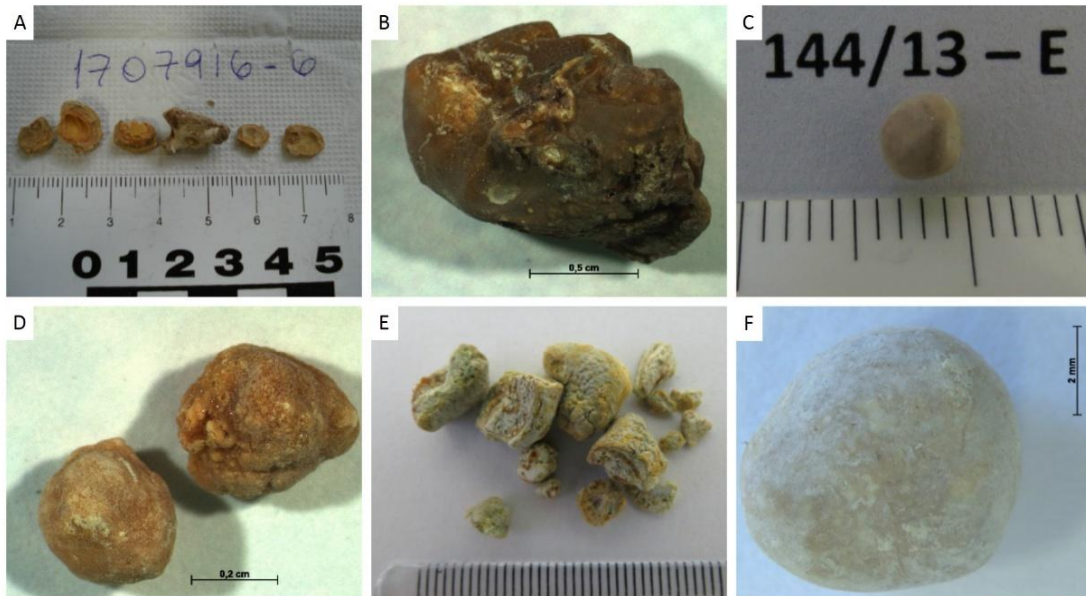


Figure 11 - Template showing images of uric acid or uricite minerals. The kidney stones of the images ('C) and (D) are composed by 100% of uricite mineral and the kidney stones of the images (A), (B), (E) and (F) are composed from 70% to 90% of uricite.

4.2.8. *CYSTINE*

Cystine stones are extremely rare, their color is light brown and their fabric can be a smooth surface as well as a surface formed by an aggregate of elongated crystals. Their roundness and sphericity levels are low; they are usually homogeneous; their porosity level is low and their relative hardness is about 2 (**Figure 12**).

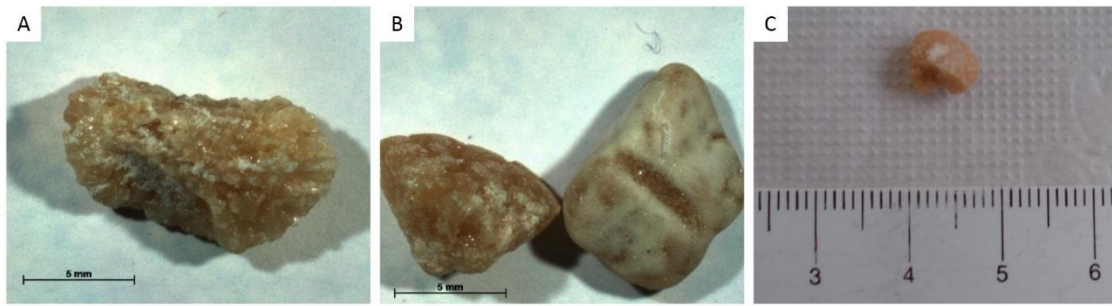


Figure 12 - Template showing images of cystine minerals. The kidney stones are composed by 100% of cystine mineral, showing similar morphological features.

4.3. Chemical Composition

Chemical composition analyses of five samples previously analyzed by XRD were obtained using X-ray fluorescence (XRF). The **Table 2** shows the main oxides of some types of kidney stones and the following oxides prevail: CaO, SO₃, Na₂O, P₂O₅, SiO₂, MgO, ZnO, K₂O.

Table 2 - Chemical composition of Cystine, Whewellite, Struvite, Weddellite and Apatite minerals in Kidney Stones obtained by XRF.

Minerals	Major Elements (%)											
	CaO	SO ₃	Na ₂ O	P ₂ O ₅	SiO ₂	MgO	ZnO	K ₂ O	I	Cl	Fe ₂ O ₃	Al ₂ O ₃
Cystine		98,9	0,6	0,4	0,1							
Whewellite	73,8	0,3	1,5	22,7	0,4	0,6	0,4					
Struvite	29,6	0,5	1,4	47,2	0,3	20,7	0,1	0,3				
Weddellite, whewellite e F-apatite	70,7	0,7	3,5	20,6	0,6	0,5	0,4		2	1		
Apatite	52,1	0,7	2,6	41,1		3,1	0,1	0,2				

The dominance of calcium and phosphorus oxides is notable in almost all samples, mainly in oxalate stones, which contain more than 70% of CaO and 20% of P₂O₅, the sum of which corresponds to about 90% of these samples.

It is noted that Na₂O as well as SiO₂, MgO and ZnO are present in almost all samples usually in small quantities. The K₂O oxide is present in struvite and apatite stones and the sample

composed by weddellite, whewellite and F-apatite contains I and Cl in its chemical composition in a relatively great quantity. Cystine stones, in contrast, are composed almost solely by sulfur, which is also present in other minerals in low quantities.

4.4. Isotopic Analyses

Eighteen samples were analyzed for carbon and oxygen stable isotopes. **Table 3** shows the isotopic data and their related mineralogical and chemical composition of the stones analyzed.

Table 3 - Isotopic data of 18 kidney stones and their respective minerals and chemical formula.

Sample	Minerals (%)	Chemical Formula	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{18}\text{O}$	Deviation ^{13}C	Deviation ^{18}O
556/14 G	Whewellite (92) e Weddellite (8)	$\text{Ca}(\text{C}_2\text{O}_4) \cdot (\text{H}_2\text{O})$ $\text{Ca}(\text{C}_2\text{O}_4) \cdot 2(\text{H}_2\text{O})$	-19,10	-8,29	0,03	0,03
556/14 H	Whewellite (88) e F-apatite (12)	$\text{Ca}(\text{C}_2\text{O}_4) \cdot (\text{H}_2\text{O})$ $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2(\text{F})$	-16,79	-9,77	0,09	0,13
556/14 K	Stru(59), F- apat(27), H- apat(15)	$(\text{NH}_4)\text{Mg}(\text{PO}_4) \cdot 6(\text{H}_2\text{O})$ $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2(\text{OH}, \text{F}, \text{Cl})$	-15,94	-9,45	0,05	0,15
556/14 M	F-apatite (54) e Struvite (46)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2(\text{OH}, \text{F}, \text{Cl})$ $(\text{NH}_4)\text{Mg}(\text{PO}_4) \cdot 6(\text{H}_2\text{O})$	-16,45	-11,13	0,08	0,52
234/15 B	Whewellite (85) e struvite (15)	$\text{Ca}(\text{C}_2\text{O}_4) \cdot (\text{H}_2\text{O})$ $(\text{NH}_4)\text{Mg}(\text{PO}_4) \cdot 6(\text{H}_2\text{O})$	-16,55	-8,06	0,05	0,05
234/15 E	Struvite (100)	$(\text{NH}_4)\text{Mg}(\text{PO}_4) \cdot 6(\text{H}_2\text{O})$	-13,76	-7,74	0,01	0,06
234/15 G	Hidroxiapatite (100)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2(\text{OH})$	-23,53	-11,54	0,02	0,03
234/15 I	Whewellite (100)	$\text{Ca}(\text{C}_2\text{O}_4) \cdot (\text{H}_2\text{O})$	-8,06	-12,20	0,06	0,33
234/15 K	Struvite (100)	$(\text{NH}_4)\text{Mg}(\text{PO}_4) \cdot 6(\text{H}_2\text{O})$	-15,30	-6,62	0,02	0,03
234/15 L	Struvite (100)	$(\text{NH}_4)\text{Mg}(\text{PO}_4) \cdot 6(\text{H}_2\text{O})$	-17,01	-6,07	0,02	0,05
234/15 M	Struvite (100)	$(\text{NH}_4)\text{Mg}(\text{PO}_4) \cdot 6(\text{H}_2\text{O})$	-17,83	-9,10	0,06	0,04
234/15 O	Struvite (100)	$(\text{NH}_4)\text{Mg}(\text{PO}_4) \cdot 6(\text{H}_2\text{O})$	-17,83	-7,00	0,04	0,03
234/15 U	Struvite (100)	$(\text{NH}_4)\text{Mg}(\text{PO}_4) \cdot 6(\text{H}_2\text{O})$	-20,14	-9,24	0,02	0,04
556/14 J	Uric Acid (>90)	$\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$	It does not have signs			
234/15 A	Cystine	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2$	It does not have signs			
234/15 C	Cystine	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2$	It does not have signs			
234/15 J	Uric Acid (84) and Whewellite (16)	$\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$ $\text{Ca}(\text{C}_2\text{O}_4) \cdot (\text{H}_2\text{O})$	It does not have signs			
234/15 P	Uric Acid (100)	$\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$	It does not have signs			

Kidney stones formed by uric acid and cystine do not show any isotopic signals, even after many attempts. The other minerals analyzed have shown negative values for both carbon and oxygen isotopes with ranges of $\delta^{13}\text{C}$ values from -24 to -8‰, while $\delta^{18}\text{O}$ values are less negative, ranging from -12 to -6‰. The results have been divided into four groups according to their mineralogical composition: whewellite, struvite, struvite and apatite, and hydroxiapatite groups; whose results are highlighted on **figure 13**.

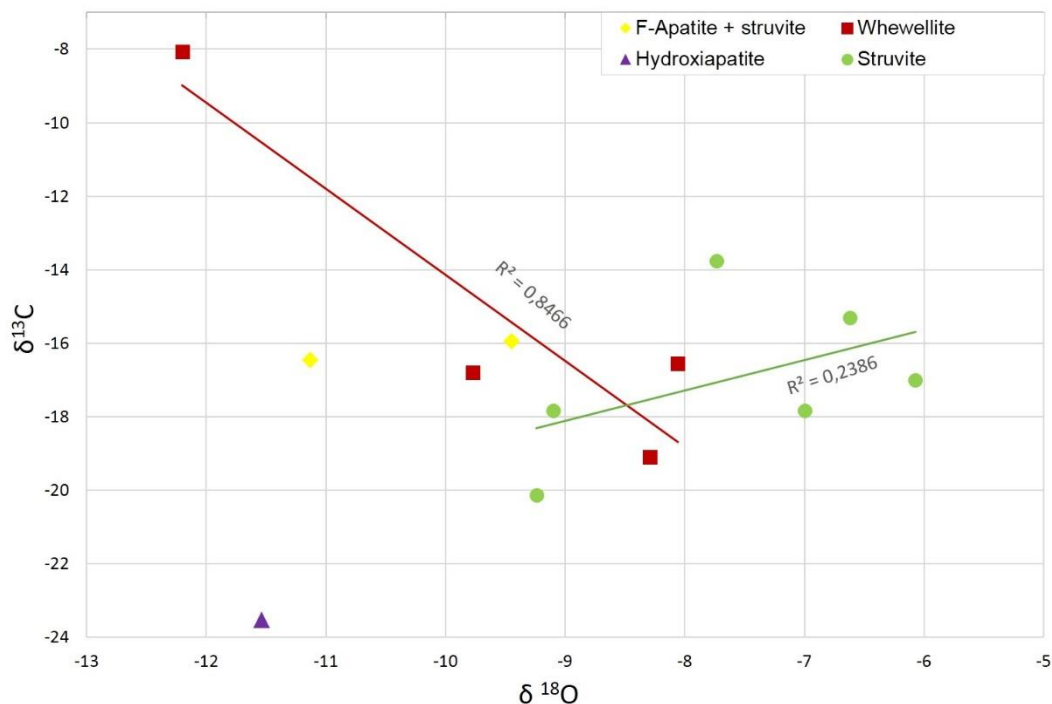


Figure 13 - $\delta^{13}\text{C}$ versus $\delta^{18}\text{O}$ values of 13 kidney stones separated into four groups: Hydroxiapatite, F-apatite + Struvite, Struvite and Whewellite.

The R-squared value represents a trend-line indicating a general pattern of whewellite and struvite groups, whose values range from 0 to 1 and the near zero values are less reliable than those near to one. The R-squared value of the whewellite group is about 0.85 and for the struvite group is about 0.24. It is notable that the latter data points to struvite stones are the most spread group and therefore, the less reliable.

In this work, the whewellite group decrease the values of whewellite mineral quantity in each kidney stone. The sample plotted as a red data point in **figure 14** is formed by 100% of whewellite, the green data point represents a kidney stone comprised by 92% of whewellite and 8% of weddellite. The yellow data point represents a stone comprised by 88% of whewellite and 12% of fluor-apatite and the blue data point represents a stone formed by 85% of whewellite and 15% of struvite. In the **Figure 14** each sample is detailed with their respective mineralogical composition and mineral percentage.

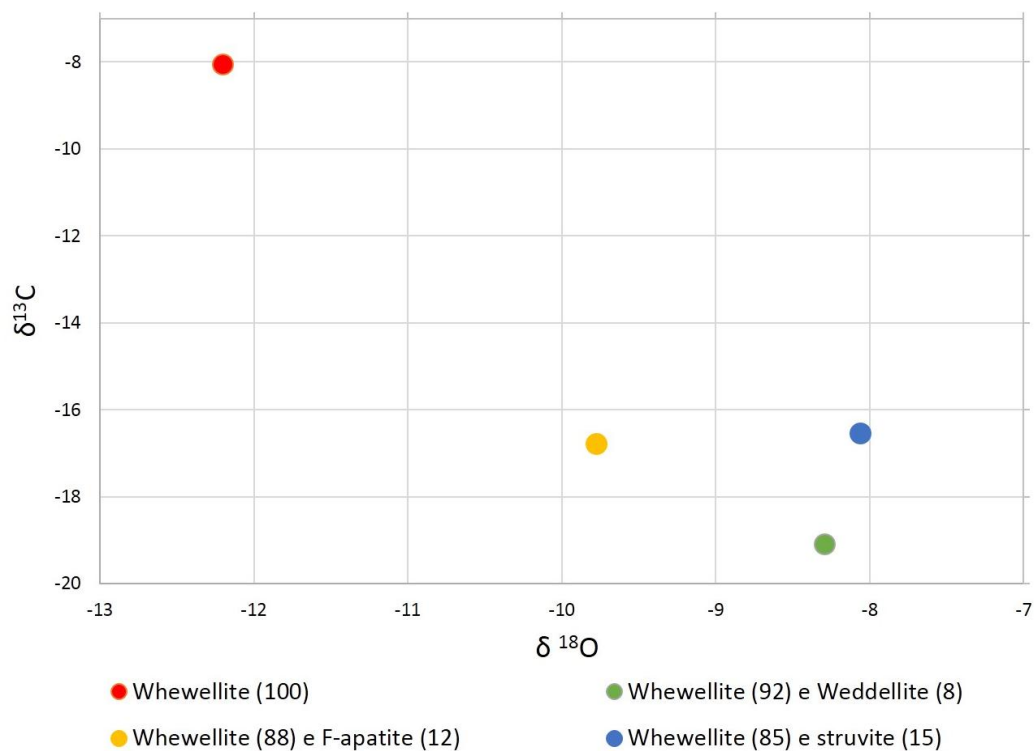


Figure 14 - $\delta^{13}\text{C}$ versus $\delta^{18}\text{O}$ values of whewellite group stones, with decrease whewellite percentage from left to right. The numbers inside the brackets represent the percentage of each mineral.

According to the figure 14, the sample that contains 100% of whewellite is less negative with respect to carbon isotopes than the other three samples, whose $\delta^{13}\text{C}$ values range from about -19 to -16‰. In contrast, in relation to oxygen isotopes the relationship between them is the

opposite, since oxygen isotopic value of the sample with 100% of whewellite is more negative than the values obtained for the other samples, whose mineralogical composition is diverse.

5. DISCUSSIONS

Regarding morphological analysis, the bulk of the samples does not show a representative variety of colors, most commonly varying between light to dark brown. It is not possible to establish a mean size for kidney stones because almost all of the samples are fractured, but the majority of them have less than 1 centimeter. With respect to fabric, most of the stones are formed by an aggregate of crystals. Structurally they are heterogeneous and there is not a dominance regarding sphericity and roundness levels. The samples were classified with low to medium porosity and their hardness varies from 1.5 to 5.5.

The wide occurrence of calcium oxalate stones and their different shapes hampers their macroscopic identification. Both stones have light to dark brown colors, usually they do not have zonation and they have shown a surface formed by an aggregate of crystals, beyond low to medium levels of roundness and sphericity. However, the weddelite stones, despite rarely occurring without whewellite, they have a lighter color than the latter and their relative hardness is also greater than the hardness of whewellite.

Apatite, struvite, brushite and whitlockite are calcium phosphates and each one exhibits different morphological characteristics. Struvite stones can be recognized by their white/light brown color, smooth surface, presence of zonation and low hardness of about 1 to 2; these features are similar with those described for brushite stones, but the latter are very rare, besides it does not have zonation and there are samples of it with aggregates of minerals on their surface.

Apatite and Whitlockite stones can be easily identified by their high hardness of about 5. Apatite samples does not exhibit common characteristics among them, although they can be distinguished from witlockite stones because of the orange color of the latter mineral.

Uric acid and cystine stones are organic compounds with similar morphological characteristics. Both have shown low hardness and homogeneous structure, however, uric acid stones can be recognized by their slightly orange color and their high levels of roundness and sphericity, whereas these levels are low for cystine.

The mean features of all kidney stones are summarized in **Table 4**. This table represents a general pattern of each stone, but it is important to know/remember that is not a rule, therefore, we might find a kidney stone with features related to more than two different minerals.

Table 4 - Summary of morphological characteristics of each kidney stone sample regarding to its mineralogy.

Minerals	Features						
	Color	Fabric (Surface)	Structure		Porosity Level	Relative Hardness	Zonation
			Roundness and Sphericity Level	Homogeneous or heterogeneous			
Whewellite	Light to dark Brown	Aggregate of crystals	Low to medium for both	Heterogeneous	Low - Medium	2.5 - 3.0	Rare
Weddellite	White brownish - Light Brown	Aggregate of elongated crystals	Sphericity - low Roundness - low to medium	Homogeneous	high	4.0	Not observed
Struvite	White - White Brownish	Smooth	Sphericity - low Roundness - medium	Heterogeneous	Low	1.5 - 2.0	Observed
Apatite	Light brown - Dark gray	Smooth - Aggregate of crystals	Medium to high for both	Heterogeneous	Low - Medium	5.0 - 5.5	Observed
Whitlockite	Orange - Light Brown	Mostly smooth	Sphericity - medium Roundness - low	Heterogeneous	Medium	5.0	Observed
Brushite	White	Smooth - Aggregate of crystals	Low for both	Homogeneous	High	2.5	Not observed
Uric Acid	Light Brown - Slightly Orange	Smooth	High for both	Homogeneous	Low	1.0 - 2.0	Not observed

Cystine	Light Brown	Smooth - Aggregate of crystals	Low for both	Homogeneous	Low	2.0	Not observed
----------------	-------------	--------------------------------	--------------	-------------	-----	-----	--------------

The main feature of differentiation of the most common minerals in kidney stones is the relative hardness. From this aspect, we can divide the stones into three groups: low (<2), medium (between 2 and 5) and high (>5) relative hardness. After, according to the color, it is possible to recognize and differentiate each mineral, as shown in **figure 15**.

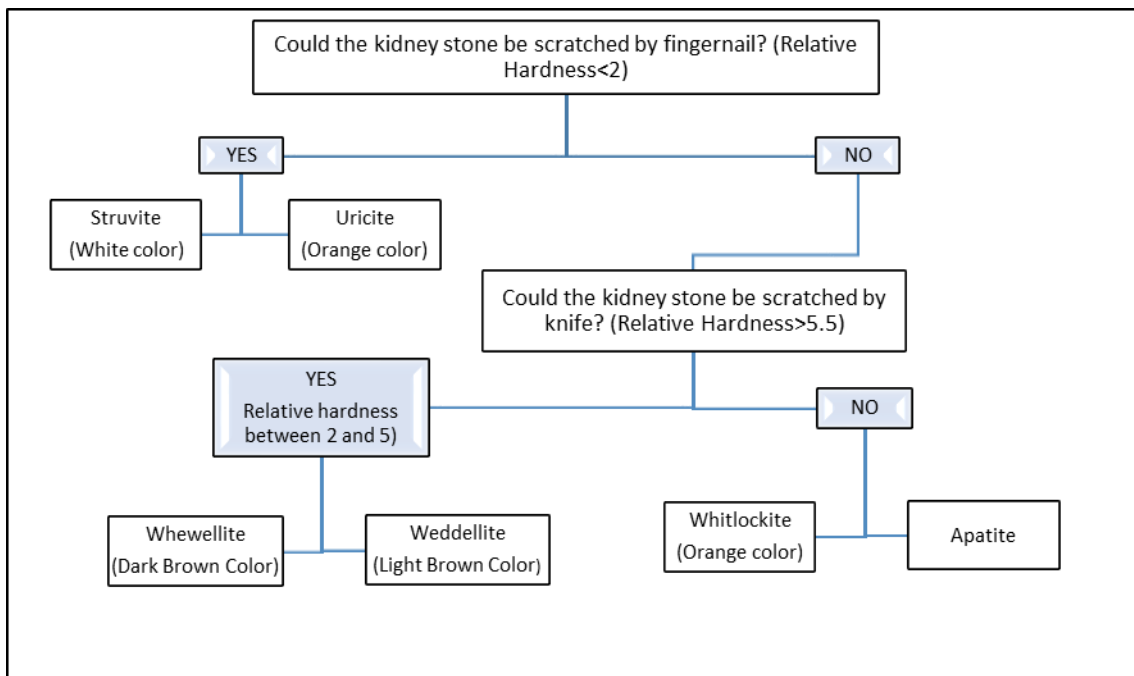


Figure 15 – Morphological classification of kidney stones using relative hardness and color aspects.

The minerals presented on this figure can be separated by simple questions about the relative hardness and information about their main color. The first question separates the kidney stones with low relative hardness, that can be struvite, uric acid and cystine according to the **table 4**. The cystine stone do not appear on figure because it is very rare, however, it can be distinguish by its light brown color and its low roundness and sphericity levels.

The second question on figure 15 separates the kidney stones with high and medium relative hardness. If the knife can scratch the stone, the sample is composed probably by whewellite or weddellite. Nevertheless, if the stone has a high relative hardness and the knife can not scratch it, the sample is composed by some mineral of the apatite group, that contain apatite *sensu strictu*, fluorine-apatite, hydroxi-apatite or whitlockite stone, which is rarer than apatite.

From FRX results, it is noted that Na₂O as well as SiO₂, MgO and ZnO are present in almost all samples usually in small quantities. However, struvite stones contain more than 20% of MgO, and this fact could be related to its origin, since struvite stones are admittedly formed by urinary infection, which is associated with presence of bacteria.

Cystine stones, in contrast, are composed almost solely by sulfur, which is also present in other minerals in low quantities. This confirms the data mentioned by Balaji e Mani Menon (1997), who says that cystine stones are an organic compound formed by cystinuria disease.

The results obtained by isotopic analyses have demonstrated that the kidney stones formed by uric acid and cystine do not show any isotopic signals. Both are organic compounds and their chemical bonding could be responsible for the unsuccessful reaction between them and the phosphoric acid (H₃PO₄), which does not allow the CO₂ release. On the other hand, Krouse and Levinson (1983) have found isotopic carbon signs in uric acid stones, whose $\delta^{13}\text{C}$ values are up to +7‰, and given the great quantity of sulfur in cystine stones, oxygen and carbon isotopic signals were indeed not expected.

The pair formed by struvite and apatite have similar isotopic values, with just a little difference between $\delta^{18}\text{O}$ values. The hydroxiapatite kidney stones have shown the most negative values for both isotopes, with $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ values equal to -23.53 and -11.54‰, respectively.

Whewellite and Struvite groups are the most representative, with four and six samples, respectively. Whewellite stones have shown $\delta^{13}\text{C}$ values similar to those described by Krouse and Levinson (1983), whose values range from -24 to -10‰.

The struvite group is composed by 100% of struvite mineral. Even with the same quantity of struvite, the samples exhibited different isotopic results, with a low R-squared value, as shown in **figure 13**. Nevertheless, despite an unreliable trend-line, this group has the lowest $\delta^{18}\text{O}$ values and the data points are plotted close to each other.

Despite the struvite group only contain samples with 100% of this mineral, the isotopic results were different for each stone, suggesting that external conditions could interfere in the formation and growth of the kidney stones, even those with the same composition, such struvite stones.

6. CONCLUSIONS

Despite the substantial incidence of nephrolithiasis all across the world, there is not a common understanding about how the mechanisms act in the generation and/or inhibition of kidney stones. The application of a geological technique was effective in morphological and mineralogical characterization of the kidney stones, as well as an attempt to verify if the external environmental conditions to human organism interfere or not in generation of kidney stones.

The results of mineralogical composition analysis obtained by the XRD technique have shown similar minerals to those mentioned in literature. Firstly, the samples were divided into 3 groups, with respect to the mineral prevalence: monomineralic, bimineralic and polymineralic stones. The monomineralic stones are formed by more than 90% of a single mineral; the

bimineralic stones are formed exclusively by two minerals and polymineralic stones are formed by at least three minerals.

Whewellite stone represents more than 60% of monomineralic stones, followed by 14% of uric acid, 10.5% of struvite, 5.8% of apatite, besides cystine, weddellite and brushite. Among bimineralic stones the pair formed by whewellite and weddellite predominates, representing more than 30% of them, followed by the struvite and apatite pair, with 20% of occurrence. In polymineralic stones, whewellite is also present in each sample, showing the great prevalence of this mineral in kidney stones.

Chemical composition analyses have exhibited the prevalence of CaO, SO₃, Na₂O, P₂O₅, SiO₂, MgO, ZnO, K₂O oxides. Most of the samples analyzed using the XRF technique, are formed by calcium oxalate and phosphate, which supports the chemical results obtained, whose main elements were calcium and phosphorous. It was observed almost 99% of SO₃ in cystine stones, an organic compound, which corroborates the data from literature. For struvite stone, their relative quantity of MgO is also related to its chemical formula.

The observation of the different morphological aspects of kidney stones has allowed to conclude that even with their great variety, it is possible to establish some patterns for each mineral, mainly based on relative hardness, color and fabric. Struvite and uric acid stones have low hardness and they can be recognized by the color, since uric acid stones tend to be orange brownish and the struvite stone is white. Apatite stones have high relative hardness, while whewellite stones have medium relative hardness, furthermore, the zonation aspect is more common in apatite than in whewellite stones.

Isotopic results revealed that cystine and uric acid stones did not show any isotopic signs, which could be related to their chemical composition, which does not contain CO₂ in their

chemical formula, since these stones are organic compounds. The other kidney stones have shown a wide range of oxygen and carbon values. However, despite that broad distribution and the low number of samples, the four groups previously defined by their mineralogical composition have shown slightly different results, which could be considered as patterns in this work.

In conclusion, it is possible to verify the type of kidney stone by analyzing the hardness, color and fabric aspects, which can assist in the identification of stones and streamline the medical treatment. The isotopic patterns observed in this work confirm the distinct chemical origins of each mineral species, also suggesting that external factors such as water and food intake could collaborate or at least affect the precipitation of kidney stones.

ACKNOWLEDGEMENTS

We acknowledge the general support of the UFPR / LAMIR (Laboratório de Análises de Minerais e Rochas). This research is part of the Nephrolithiasis Project, a partnership among LAMIR and the Nephrolithiasis Research Center of Clinical Hospital of UFPR, funded by LAMIR. We thank Professor Maurício de Carvalho and the medicine students Hernane, Mateus, Paulo, Rodrigo, Gilberto, Henrique and Camila, UFPR and PUC-PR, Brazil, for providing the samples and helping the mineralogical analyses.

REFERENCES

- Aloisi G. 2008. An alternative origin for nanobacteria in kidney stones. *Bioscience Hypotheses*, **v.1 (3)**: 138-141.
- Balaji, K. C., Mani Menon. 1997. Mechanism of Stone Formation. *Urolithiasis*, **24(1)**: 94-143.

Bellizzi V., Nicola de, L., Minutolo, R., Russo, D., Cianciaruso, B., Andereucci, M., Conte, G., Andereucci, V. B. 1999. Effects of Water Hardness on Urinary Risk Factors for Kidney Stones in Patients with Idiopathic Nephrolithiasis. *Nephron*, **81**: 66-70.

Branco C.H.D., Silva A.L., Luiz J.M., Mercuri L.P. Matos J.R. 2009. Caracterização de cálculos renais por análise térmica. *Eclética Química*, São Paulo, **34(1)**: 51-56.

Caxito, A. F.; Silva, A. V. 2015. Isótopos Estáveis: Fundamentos e Técnicas aplicadas à Caracterização e Proveniência Geográfica de produtos alimentícios. *Geonomos*, **23(1)**: 10-17.

Cordua W.S. 1996. Minerals from kidney stones. *Leaverite News*, **21(2)**: p. 4. Disponível em: <<http://digital.library.wisc.edu/1793/11569>>. Acessado em 02 de maio de 2016.

Dupraz, C., Reid, R. P., Braissant, O., Decho, A. W., Norman, R. S., Visscher, P.T. 2008. Process of carbonate precipitation in modern microbial mats. *Earth-Science Reviews*. p.22.

Dutrow, B.; Cornelis, K. Manual de Ciências dos Minerais. Editora Bookman. 23 edição. 724p. 2012. Tradução Rualdo Menegat. Porto Alegre – RS. 724p. 2012

Irsay L., BORDINC, E., BORDA, M., UNGUR, R., CIORTEA, V., ONAC, I. 2014. Influence of mineral water consumption and renal stone formation. *Balneo Research Journal*, **5**: p37-43.

Krouse, H. R.; Levinson, A. A. 1983. Geographical trends of carbon and sulphur isotope abundances in human kidney stones. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **48**: 187-191.

Lieske J.C., Deganello S., Toback F.G. 1999. Cell-Crystal Interactions and Kidney Stone Formation. *Nephron*, **81**: 8-17.

NEPHROLITHIASIS. In: Online Etymology Dictionary. Disponível em: <<http://www.etymonline.com/index.php?term=nephrolithiasis>>. Acesso em 20 de setembro 2016.

Peres, L.A.B., Molina, A.S., Galles, M.H.L. 2003. Metabolic investigation of patients with urolithiasis in a specific region. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1677-55382003000300004>>. Acesso em: 18 de outubro 2016.

Siener R., Jahnen A., Hesse A. 2004. Influence of a mineral water rich in calcium, magnesium and bicarbonate on urine composition and the risk of calcium oxalate crystallization. *European Journal of Clinical Nutrition*, **58**: 270:276.

Tiselius H. G. 2011. Who forms Stones and Why? *European Urology Supplements*, **10**: 408-414.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar da grande incidência de nefrolitíase no mundo, não há ainda um consenso sobre como os mecanismos atuam na formação e/ou inibição dos cálculos renais. A aplicação de técnicas geológicas mostraram-se eficazes na caracterização morfológica e mineralógica dos cálculos, assim como na tentativa de verificar se as condições ambientais externas ao organismo interferem ou não na geração dos cálculos renais.

Através dos resultados da composição mineralógica obtidos pela difração de raios X, os cálculos foram classificados a partir da quantidade de minerais presentes neles, nos grupos monominerálicos, biminerálicos e poliminerálicos. Os cálculos monominerálicos são formados por 90 a 100% de um único mineral; os cálculos biminerálicos são formados exclusivamente por dois minerais e os poliminerálicos são formados por pelo menos três minerais.

O cálculo de whewellita representa mais de 60% dos cálculos monominerálicos, seguidos por 14% de ácido úrico, 10,5% de estruvita, 5,8% de apatita, além de cistina, weddellita e brushita. Dentre os cálculos biminerálicos predomina o par formado por whewellita e weddellita, que representa mais de 30% desse grupo, seguido pelo par formado por estruvita e apatita, representando 20%. Nos cálculos poliminerálicos a whewellita também é o mineral mais comum, presente em todas as amostras desse grupo, evidenciando, portanto, a grande predominância da whewellita nos cálculos renais.

Os resultados da composição química mostraram a predominância dos óxidos de CaO, SO₃, Na₂O, P₂O₅, SiO₂, MgO, ZnO e K₂O. Os principais elementos obtidos pela fluorescência de raios X foram o cálcio e o fósforo, corroborando com a composição mineralógica da maioria das amostras analisadas, que são formadas por fosfatos e oxalatos de cálcio. No cálculo de cistina, formado por composto orgânico, foi obtido aproximadamente 99% de SO₃, e na estruvita obteve-se uma quantidade relativa de MgO. Ambos os resultados corroboram com os dados da literatura, que indicam estes

elementos como um dos principais componentes de suas respectivas fórmulas químicas.

Observações dos diferentes aspectos morfológicos dos cálculos renais permitiram concluir que mesmo com a sua grande variedade, é possível estabelecer alguns padrões para cada tipo mineral, principalmente baseando-se na dureza relativa, cor e textura. Cálculos de estruvita e ácido úrico possuem baixa dureza e podem ser diferenciados pela cor, visto que o ácido úrico tende a ser laranja acastanhado e a estruvita é branca ou branca acastanhada. Os cálculos de apatita tem dureza alta, enquanto que os de whewellita apresentam uma dureza média, além disso, a zonação concêntrica é mais frequentemente observada na apatita do que na whewellita.

Os resultados isotópicos mostraram que os cálculos de cistina e ácido úrico não possuem sinais isotópicos, o que pode estar relacionado à sua composição química e ausência de CO₂. Os demais cálculos apresentaram uma ampla variação dos valores isotópicos de carbono e oxigênio, contudo, apesar da grande distribuição e pequena amostragem, os quatro grupos de cálculos previamente definidos por sua composição mineralógica apresentaram resultados levemente distintos entre eles, que pode ser considerado como “padrões” nesta pesquisa.

Concluindo, é possível verificar o tipo de cálculo renal analisando-se a dureza, cor e textura, o que facilita a identificação dos cálculos e agiliza o tratamento médico dos pacientes. Os padrões isotópicos observados nesse trabalho confirmam a origem química distinta de cada espécie mineral, além de sugerir que fatores externos como a ingestão de água e a alimentação podem colaborar, ou ao menos, interferir na geração dos cálculos renais.

REFERÊNCIAS

- ALOISI, G. An alternative origin for nanobacteria in kidney stones. **Bioscience Hypotheses**, v.1 (3), p.138-141.2008.
- BALAJI, K. C., MANI MENON. Mechanism of Stone Formation. **Urolithiasis**, v. 24, nº 1, p. 94:143.1997.
- BELLIZZI, V.; NICOLA de, L.; MINUTOLO, R.; RUSSO, D.; CIANCIARUSO, B.; ANDEREUCCI, M.; CONTE, G.; ANDREUCCI, V. B. Effects of Water Hardness on Urinary Risk Factors for Kidney Stones in Patients with Idiopathic Nephrolithiasis. **Nephron**, v. 81, p.66-70.1999.
- BRANCO, C.H.D.; SILVA, A.L.; LUIZ, J.M.; MERCURI, L.P.; MATOS, J.R. Caracterização de cálculos renais por análise térmica. **Eclética Química**, São Paulo, v. 34(1), p.51-56.2009.
- BRENER, Z. Z.; WINCHESTER, J. M.; SALMAN, H.; BERGMAN, M. Nephrolithiasis: Evaluation and Management. **South Med**, v. 104 (2), p.133-139. 2011. Disponível em: <www.medscape.com/viewarticle/736749>. Acessado em 26 de outubro 2016.
- CAXITO, A. F.; SILVA, A. V. Isótopos Estáveis: Fundamentos e Técnicas aplicadas à Caracterização e Proveniência Geográfica de produtos alimentícios. **Geonomos**. Instituto de Geociências, Universidade Federal de Minas Gerais, v.23, n.1, p.10-17. 2015.
- CORDUA, W.S. Minerals from kidney stones. **Leaverite News**, v. 21, n. 2, p. 4. 1996. Disponível em: <<http://digital.library.wisc.edu/1793/11569>>. Acessado em 02 de maio de 2016.
- DUPRAZ, C.; REID, R. P.; BRAISSANT, O.; DECHO, A. W.; NORMAN, R. S.; VISSCHER, P.T. Process of carbonate precipitation in modern microbial mats. **Earth-Science Reviews**. p.22. 2008.
- DUTROW, B.; CORNELIS, K. **Manual de Ciências dos Minerais**. 23. Ed. Porto Alegre: Bookman. 724p. 2012. Tradução Rualdo Menegat.

GOBBO, L. A. Aplicação da Difração de Raios-X e Método de Rietveld no Estudo de Cimento Portland. Tese de Doutorado em Geologia. Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo. São Paulo, p.273. 2009.

GRAÇA PORTO. Disponível em:

<<http://www.agracadaquimica.com.br/index.php?&ds=1&acao=quimica/ms2&i=18&id=610>>. Acesso em: 25 out. 2016

IRSAY, L.; BORDINC, E.; BORDA, M.; UNGUR, R.; CIORTEA, V.; ONAC, I. Influence of mineral water consumption and renal stone formation. **Balneo Research Journal**, v. 5, p.37-43. 2014.

KROUSE, H. R.; LEVINSON, A. A. Geographical trends of carbon and sulphur isotope abundances in human kidney stones. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 48, p. 187-191. 1983.

LIESKE, J.C.; DEGANELLO, S.; TOBACK, F.G. Cell-Crystal Interactions and Kidney Stone Formation. **Nephron**, v.81, p.8-17.1999.

MIRZAZADEH, M.; NOURAN, M. G.; RICHARDS, K. A.; ZARE, M. Effects of Drinking Water Quality on Urinary Parameters in men with and without Urinary Tract Stones. **Urology**. v 79 (3), p. 501-507. 2012.

NEPHROLITHIASIS. In: Online Etymology Dictionary. Disponível em: <<http://www.etymonline.com/index.php?term=nephrolithiasis>>. Acesso em 20 de setembro 2016.

PERES, L.A.B.; MOLINA, A.S.; GALLES, M.H.L. **Metabolic investigation of patients with urolithiasis in a specific region**. 2003. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1677-55382003000300004>>. Acesso em: 18 de outubro 2016.

SACCO, S.R.; LOPES, R.S. Urolitíase: estudo comparativo em bovinos Guzerá oriundos de propriedades com e sem o problema. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31(3), p.206-212. 2011.

SANTOS, E. S.; GAMA, E. M.; FRANÇA da, R. S.; SOUZA, S. A.; MATOS, R. P. Espectrometria de Fluorescência de raios X na determinação de espécies químicas. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 17, p.3413-3432. 2013.

SANTOS, M. J. Disponível em:

<<http://professormarciosantos5.blogspot.com.br/2016/02/morfometria-dos-sedimentos.html>>. Acessado em: 25 out. 2016.

SIENER, R.; JAHNEN, A.; HESSE, A. Influence of a mineral water rich in calcium, magnesium and bicarbonate on urine composition and the risk of calcium oxalate crystallization. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 58, p.270-276.2004.

WATER HARDNESS. U. S. Geological Survey. Editado em 2016. Disponível em: <<http://water.usgs.gov/edu/hardness.html>>. Acessado em 01 nov. 2016.

**APÊNDICE 1 – COMPOSIÇÃO MINERALÓGICA DE TODAS AS AMOSTRAS NO
PERÍODO DE 2012 A 2016.**

91	438/13 - E	100,00%										
92	438/13 - F	96,00%				4,00%						
93	438/13 - G	14,00%		86,00%								
94	438/13 - H	100,00%										
95	438/13 - I	8,00%	7,00%	12,00%	73,00%							
96	438/13 - J	100,00%										
97	438/13 - K	100,00%										
98	438/13 - L	77,00%	23,00%									
99	22/14 - A	57,00%				27,00%		16,00%				
100	22/14 - B	55,00%		26,00%		19,00%						
101	22/14 - C	81,00%				19,00%						
102	22/14 - D	92,00%	3,00%			4,00%						
103	22/14 - E					19,00%		81,00%				
104	22/14 - F					62,00%		38,00%				
105	22/14 - G	79,00%	21,00%									
106	22/14 - H	66,00%	3,00%		31,00%							
107	22/14 - I	15,00%				85,00%						
108	22/14 - J	89,00%			11,00%							
109	319/14 - A		100,00%									
110	319/14 - B	72,00%	28,00%									
111	319/14 - C	94,00%	6,00%									
112	319/14 - D	100,00%										
113	319/14 - E	100,00%										
114	556/14 - A	100,00%										
115	556/14 - B	97,00%	3,00%									
116	556/14 - C	91,00%	6,00%			3,00%						
117	556/14 - D					100,00%						
118	556/14 - E	90,00%	10,00%									
119	556/14 - F	91,00%				9,00%						
120	556/14 - G	92,00%	8,00%									
121	556/14 - H	88,00%				12,00%						
122	556/14 - I	28,00%		72,00%								
123	556/14 - J				> 90 %							
124	556/14 - K			59,00%		41,00%						
125	556/14 - L	95,00%	5,00%									
126	556/14 - M			46,00%		54,00%						
127	556/14 - N	35,00%	52,00%			13,00%						
128	556/14 - O	100,00%										
129	556/14 - P	20,00%						58,00%	16,00%	6,00%		
130	234/15 - A						100,00%					
131	234/15 - B	85,00%		15,00%								
132	234/15 - C						100,00%					
133	234/15 - D			100,00%								
134	234/15 - E			100,00%								
135	234/15 - F	100,00%										
136	234/15 - G						100,00%					
137	234/15 - H	52,00%		48,00%								
138	234/15 - I	100,00%										
139	234/15 - J	16,00%				84,00%						
140	234/15 - K			100,00%								
141	234/15 - L			100,00%								
142	234/15 - M			100,00%								
143	234/15 - N	100,00%										
144	234/15 - O			100,00%								
145	234/15 - P					100,00%						
146	234/15 - T	88,00%		12,00%								
147	234/15 - U			100,00%								
148	234/15 - V	81,00%	6,00%				13,00%					
149	234/15 - X			100,00%								
150	234/15 - Z	100,00%										
151	387/16 - A	47,00%	17,00%				36,00%					
152	387/16 - E	100,00%										
153	387/16 - F	18,00%		42,00%			39,00%					
154	387/16 - I	100,00%										
155	387/16 - N						84,00%				16,00%	
156	387/16 - R	X			X							
157	387/16 - S				100,00%							
158	387/16 - U	60,00%	40,00%									
159	387/16 - V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
160	387/16 - W	35,00%					65,00%					

APÊNDICE 2 – COMPOSIÇÃO MINERALÓGICA DOS CÁLCULOS BIMINERÁLICOS

**APÊNDICE 2 - COMPOSIÇÃO MINERALÓGICA OBTIDA POR DIFRAÇÃO DE RAIOS X
DAS CÁLCULOS RENAI BIMINERÁLICOS**

Nº	Amostra	Composição						
		Whewellite	Weddellite	Struvite	Uric Acid	Apatite	Whitlockite	Brushite
7	029/12 - G			88,00%		12,00%		
11	253/12 - A	54,00%	46,00%					
12	253/12 - B			59,00%		41,00%		
14	253/12 - D			60,00%		40,00%		
16	253/12 - F	89,00%	11,00%					
22	342/12 - D	74,00%	26,00%					
23	342/12 - E	67,00%			33,00%			
26	342/12 - H			83,00%	17,00%			
27	342/12 - I	79,00%	21,00%					
28	342/12 - J	69,00%	31,00%					
29	342/12 - K	65,00%			35,00%			
30	342/12 - L	70,00%				30,00%		
35	343/12 - E			83,00%	17,00%			
39	509/12 - D			46,00%		54,00%		
42	509/12 - G		68,00%			32,00%		
44	509/12 - I	61,00%				39,00%		
49	553/12 - A			58,00%		42,00%		
51	553/12 - C	86,00%				14,00%		
54	553/12 - F	65,00%		35,00%				
57	553/12 - I			83,00%		17,00%		
60	553/12 - L	64,00%	36,00%					
62	80/13 - B			83,00%		17,00%		
63	80/13 - C	88,00%			12,00%			
69	80/13 - I			71,00%		29,00%		
70	80/13 - J			81,00%		19,00%		
75	80/13 - O	89,00%	11,00%					
76	80/13 - P	57,00%	43,00%					
78	80/13 - R	83,00%	17,00%					
79	80/13 - S	32,00%	68,00%					
80	144/13 - A	88,00%	12,00%					
82	144/13 - C	45,00%			55,00%			
83	144/13 - D	22,00%	78,00%					
86	144/13 - G	24,00%	76,00%					
89	438/13 - C	73,00%	27,00%					
93	438/13 - G	14,00%		86,00%				
98	438/13 - L	77,00%	23,00%					
101	22/14 - C	81,00%				19,00%		
103	22/14 - E					19,00%	81,00%	
104	22/14 - F					62,00%	38,00%	
105	22/14 - G	79,00%	21,00%					
107	22/14 - I	15,00%				85,00%		
108	22/14 - J	89,00%			11,00%			
110	319/14 - B	72,00%	28,00%					
121	556/14 - H	88,00%				12,00%		
122	556/14 - I	28,00%		72,00%				
124	556/14 - K			59,00%		41,00%		
126	556/14 - M			46,00%		54,00%		
131	234/15 - B	85,00%		15,00%				
137	234/15 - H	52,00%		48,00%				
139	234/15 - J	16,00%			84,00%			
146	234/15 - T	88,00%		12,00%				
155	387/16 - N					84,00%		16,00%
156	387/16 - R	X			X			
158	387/16 - U	60,00%	40,00%					
160	387/16 - W	35,00%				65,00%		