

CARACTERIZAÇÃO DO CÁLCULO RENAL UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA RAMAN

CHARACTERIZATION OF KIDNEY STONES USING RAMAN SPECTROSCOPY

Evelyn Belorio da Silva
Faculdade de Tecnologia de Bauru – São Paulo
evelynbelorio1@gmail.com

Wagner Barbosa da Costa
Faculdade de Tecnologia de Bauru – São Paulo
wagner.costa2@fatec.sp.gov.br

Marcela Oliveira
Faculdade de Tecnologia de Bauru – São Paulo
marcela.oliveira@unesp.br

Nilton Francelosi Azevedo Neto
Instituto Tecnológico de Aeronáutica – São Paulo
nilton.azevedo@unesp.br

RESUMO: A formação de cálculos renais afeta milhões de pessoas em todo o mundo, tornando essencial a identificação precisa de sua composição para o diagnóstico, tratamento e prevenção de recorrências. Nesse contexto, a espectroscopia Raman destaca-se como uma técnica analítica promissora por ser não destrutiva, apresentar alta resolução espectral e baixa sensibilidade à presença de água. Neste trabalho, investigou-se a potencialidade da espectroscopia microRaman para a análise qualitativa de um cálculo renal. As análises foram realizadas em um espectrômetro Raman Evolution (Horiba), utilizando laser de 532 nm, potência de 100 mW e resolução espectral inferior a 1 cm^{-1} , com aquisição na faixa de 500 a 2000 cm^{-1} . Para otimizar as medições e proteger a lente objetiva do microscópio confocal, foi desenvolvido um protótipo de porta-amostra em lâmina e lamínula de vidro. Os resultados indicaram o oxalato de cálcio como componente majoritário do cálculo, evidenciado por uma banda de alta intensidade característica, além da presença de picos satélites que sugerem a coexistência de ácido úrico, indicando uma composição mista. A análise detalhada dos espectros, com ajuste por funções gaussianas, permitiu a identificação de múltiplas bandas vibracionais, mesmo diante de sobreposições espectrais e elevada relação sinal-ruído. Os resultados demonstram que a espectroscopia Raman é uma ferramenta eficaz para a caracterização composicional de cálculos renais, contribuindo para um diagnóstico mais preciso e para o direcionamento de estratégias terapêuticas mais adequadas.

Palavras-chave: Cálculo renal; espectroscopia Raman; microRaman; caracterização química; análise não destrutiva.

ABSTRACT: Kidney stone formation affects millions of people worldwide, making the accurate identification of their composition essential for diagnosis, treatment, and prevention of recurrence. In this context, Raman spectroscopy stands out as a promising analytical technique due to its non-destructive nature, high spectral resolution, and low sensitivity to the presence of water. In this study, the potential of micro-Raman spectroscopy for the qualitative analysis of a kidney stone was investigated. Analyses were performed using an Evolution Raman spectrometer (Horiba), employing a 532 nm laser with a power of 100 mW and spectral resolution better than 1 cm^{-1} , with data acquisition in the range of 500 to 2000 cm^{-1} . To optimize measurements and protect the confocal microscope objective lens, a custom sample holder prototype using a microscope slide and coverslip was developed. The results indicated calcium oxalate as the major component of the kidney stone, evidenced by a characteristic high-intensity Raman band, as well as the presence of satellite peaks suggesting the coexistence of uric acid, indicating a mixed composition. Detailed spectral analysis using Gaussian fitting enabled the identification of multiple vibrational bands, despite spectral overlap and high signal-to-noise ratio typical of irregular samples. These findings demonstrate that Raman spectroscopy is an effective tool for the compositional characterization of kidney stones, contributing to more accurate diagnosis and better guidance of therapeutic strategies.

Keywords: kidney stone. Raman spectroscopy. micro-Raman. chemical characterization. non-destructive analysis.

INTRODUÇÃO

A formação de cálculos renais, afeta milhões de pessoas em todo o mundo, causando dor intensa e outros problemas de saúde. Compreender a composição desses cálculos é crucial para o diagnóstico preciso, tratamento eficaz e prevenção de reincidências (Rodriguez; Heilberg, 2020; Wang *et al.*, 2022).

A espectroscopia Raman (ER) é uma técnica analítica que explora a interação da luz com moléculas, fornecendo informações sobre sua estrutura e composição (Das; Agrawal, 2011). Ao contrário de outras técnicas, como a espectroscopia infravermelha, a Raman é menos sensível à água, tornando-a

ideal para analisar cálculos urinários, que geralmente contêm altos níveis de água (Carmona; Bellanato; Escolar, 1997). O uso da espectroscopia Raman na área de análises clínicas pode ser promissor devido à técnica apresentar uma boa resolução para identificar diferentes componentes do cálculo, como oxalato de cálcio, fosfato de cálcio, ácido úrico e cistina, com alta precisão. A análise é não destrutiva, preservando a integridade do cálculo, permitindo análises posteriores ou estudos clínicos. Outro diferencial é sua análise pontual, a qual possibilita uma investigação sobre uma possível heterogeneidade na composição e distribuição dos componentes (Chang; Chiu, 2017; Selvaraju; Raja; Thirupathi, 2012).

Neste trabalho, um cálculo renal foi caracterizado utilizando a espectroscopia microRaman com comprimento de onda de 532 nm. Um protótipo de porta-amostra foi projetado com o objetivo de otimizar as medidas e evitar danos à lente objetiva do microscópio confocal.

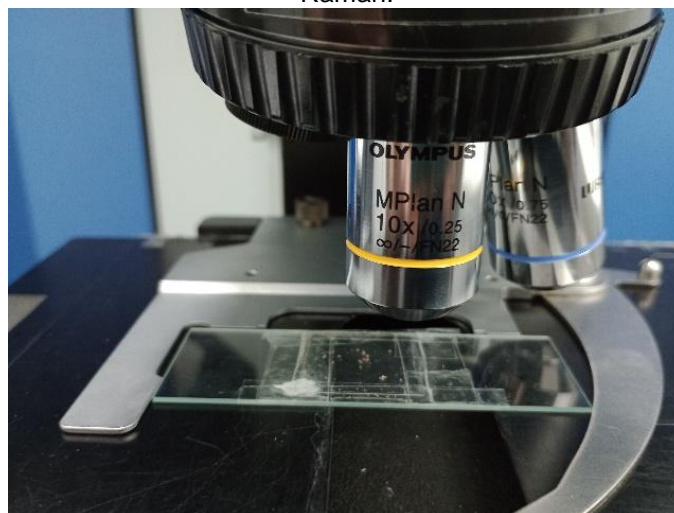
OBJETIVO

Investigar a potencialidade da técnica de espectroscopia Raman para análise qualitativa de cálculo renal.

METODOLOGIA

A caracterização por espectroscopia Raman foi realizada em um espectrômetro Evolution da Horiba, com resolução espectral inferior a 1 cm^{-1} . A radiação laser utilizada foi de 532 nm com potência de 100 mW. Os espectros foram obtidos na faixa de 500 a 2000 cm^{-1} , com tempo de aquisição de 10 s e 6 acumulações. O ajuste de foco foi realizado utilizando uma lente objetiva MPlan N de 10 x da *Olympus*. Para a análise, foi desenvolvido um porta-amostra utilizando lâmina de microscópio (26 x 76 x 1,2 mm) e lamínula de vidro (22 x 22 x 0,13 mm). A Figura 1 mostra o cálculo renal fixado no porta-substrato confeccionado.

Figura 1 – Porta-amostra fixado no suporte do microscópio confocal acoplado ao sistema Raman.

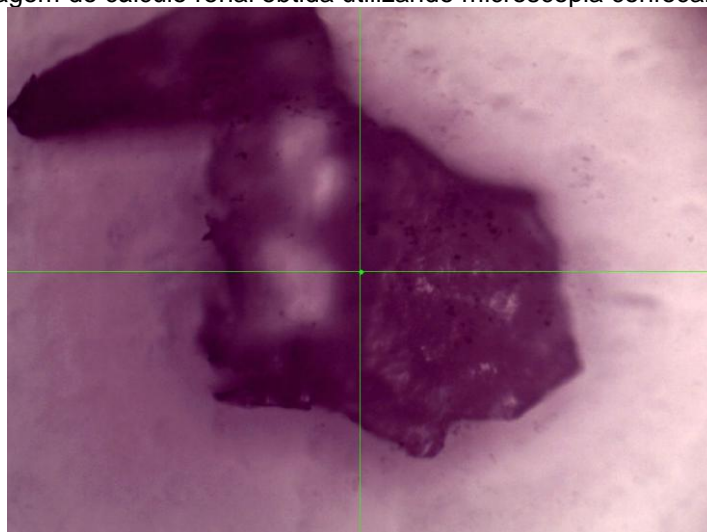


Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

DESENVOLVIMENTO

Uma das vantagens da espectroscopia de microRaman é a possibilidade de poder medir amostras com pequenas dimensões de área. Aliado a esse fator, a fixação do cálculo renal no porta-substrato permitiu o ajuste de foco sem causar danos a lente objetiva do microscópio confocal. A figura 2 mostra uma imagem do cálculo renal caracterizado nesse trabalho.

Figura 2 – Imagem do cálculo renal obtida utilizando microscopia confocal e lente de 10x.

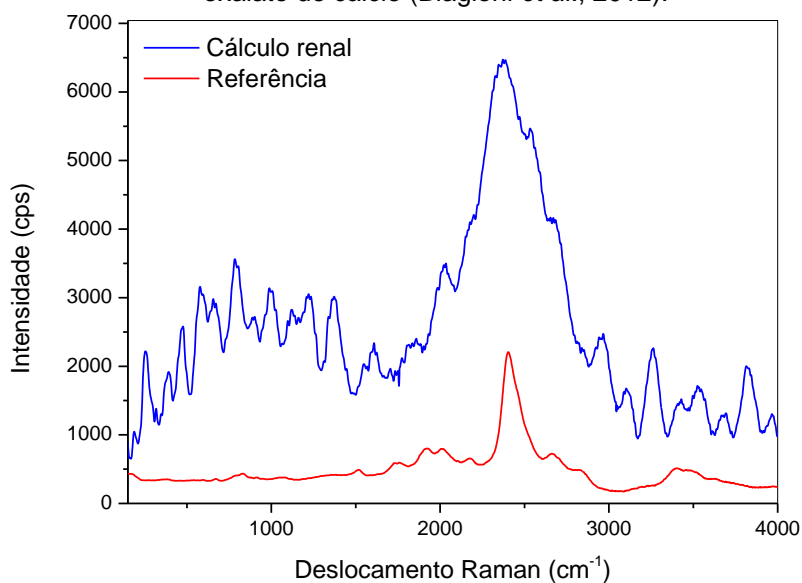


Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

A Figura 3 mostra o espectro Raman do cálculo renal. Uma banda de alta intensidade na região de 2366 cm^{-1} foi observada, coincidindo com a região característica do oxalato de cálcio, o tipo mais comum de cálculo renal (Selvaraju; Raja; Thirupathi, 2013). A presença dessa banda sugere fortemente a presença de oxalato de cálcio como componente majoritário do cálculo.

Além da banda principal, picos de menor intensidade, denominados "picos satélites", foram detectados no espectro. Para uma análise qualitativa detalhada desses picos, uma rotina de ajuste baseada na função Gaussiana foi empregada (Yuan; Mayanovic, 2017). Os resultados referentes à posição e intensidade dos picos satélites, juntamente com os respectivos modos de vibração associados a essas bandas, estão sumarizados na Tabela 1.

Figura 3 – Espectro Raman do cálculo Renal. A curva vermelha corresponde ao espectro do oxalato de cálcio (Biagioni *et al.*, 2012).



Fonte: Elaborado pelo autor (2014).

Tabela 1: Posição, intensidade e modos de vibração associados aos picos satélites no espectro Raman do cálculo renal.

Posição (cm⁻¹)	Intensidade (cps)	Composição	Modo de vibração
253,98	156,84	<i>Calcium carbonate</i>	-CO ₃ ²⁻
390,27	126,71	<i>Oxammite</i>	<i>Ring deformation</i>
894,16	2092	<i>Calcium oxalate monohydrate</i>	<i>C-C stretching</i>
988,50	248,71	<i>Hydroxyapatite</i>	<i>P-O stretching</i>
1371,57	236,51	<i>Natroxalate</i>	<i>C-O stretching</i>
2033,97	284,83	<i>Oxammite</i>	<i>Stretching vibration C=O</i>
2967,14	182,33	<i>Calcium oxalate dihydrate</i>	<i>CH₂ stretching</i>
3263,43	161,32	<i>Calcium oxalate dihydrate</i>	<i>O-H stretching</i>
3524,93	106,35	<i>Calcium oxalate polyhydrate</i>	<i>O-H stretching</i>
3693,75	66,48	<i>Calcium oxalate polyhydrate</i>	<i>O-H stretching</i>
3814,57	135,23	<i>Calcium oxalate polyhydrate</i>	<i>O-H stretching</i>
3968,54	638,12	<i>Calcium oxalate polyhydrate</i>	<i>O-H stretching</i>

Fonte: Os autores

A análise espectro Raman revelou uma alta relação sinal-ruído, característica frequente em amostras irregulares. Essa característica, aliada à presença de bandas Raman próximas de diferentes compostos, como oxalatos de cálcio mono e dihidratado, fosfato de cálcio, ácido úrico e fosfato de amônio de magnésio (Selvaraju; Raja; Thiruppathi, 2013), as quais podem influenciar na interpretação dos resultados.

O tratamento dos dados utilizando a função Gaussiana possibilitou na identificação de 12 bandas atribuídas aos modos de vibração O-H, CH₂, C=O, C-O, P-O e C-C, conforme apresentado na Tabela 1.

Estudo científicos relatam a existência de cálculos renais com composições diversas, incluindo misturas de oxalatos e ácido úrico (Millman et al., 1982). Observa-se na região entre 470 e 785 cm⁻¹ do espectro Raman do cálculo renal analisado a presença de picos satélites que podem estar relacionados ao ácido úrico (Selvaraju; Raja; Thiruppathi, 2013; Tonannavar et al., 2016). Esses

resultados sugerem que o cálculo em questão apresenta oxalato de cálcio como componente majoritário, com a possível presença de ácido úrico, conforme evidenciado pelos picos satélites.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise do espectro Raman do cálculo renal evidenciou a presença de oxalato de cálcio como componente majoritário, em concordância com a banda de alta intensidade na região de 2366 cm^{-1} , característica desse composto. Adicionalmente, picos satélites na região entre 470 e 785 cm^{-1} sugerem a possível presença de ácido úrico, indicando uma composição mista do cálculo.

A alta relação sinal-ruído, característica de amostras irregulares, e a presença de bandas Raman próximas de diferentes compostos podem dificultar a interpretação direta dos resultados. No entanto, a análise detalhada dos picos satélites utilizando a função Gaussiana permitiu a identificação de 12 bandas atribuídas a diversos modos de vibração, corroborando a identificação dos compostos presentes no cálculo.

Esses resultados demonstram a capacidade da espectroscopia Raman para a análise detalhada da composição de cálculos renais. A identificação precisa da composição do cálculo renal é fundamental para o diagnóstico e tratamento adequados da doença renal, permitindo o direcionamento do tratamento e a otimização dos resultados terapêuticos.

REFERÊNCIAS

BIAGIONI, C. *et al.* CRYSTAL CHEMISTRY OF MINERALS OF THE WOHLERITE GROUP FROM THE LOS ARCHIPELAGO, GUINEA. **The Canadian Mineralogist**, v. 50, n. 3, p. 593–609, 2012. Disponível em: <http://www.canmin.org/cgi/doi/10.3749/canmin.50.3.593>.

CARMONA, Pedro; BELLANATO, Juana; ESCOLAR, Elena. Infrared and Raman spectroscopy of urinary calculi: A review. **Biospectroscopy**, v. 3, n. 5, p. 331–346, 1997.

CHANG, Chang Chi; CHIU, Yichun. Applying quantitative micro-Raman spectroscopy to analyze stone compositions extracted from ureteroscopic lithotripsy urine. **Urological Science**, v. 28, n. 1, p. 19–22, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.urols.2016.04.002>.

DAS, Ruchita S.; AGRAWAL, Y. K. Raman spectroscopy: Recent advancements, techniques and applications. **Vibrational Spectroscopy**, v. 57, n. 2, p. 163–176, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vibspec.2011.08.003>.

MILLMAN, S. *et al.* Pathogenesis and clinical course of mixed calcium oxalate and uric acid nephrolithiasis. **Kidney International**, v. 22, n. 4, p. 366–370, 1982. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/ki.1982.183>.

RODRIGUEZ, Adrian; HEILBERG, Ita Pfeferman. Influence of socioeconomic disparities , temperature and. p. 454–460, 2020.

SELVARAJU, R.; RAJA, A.; THIRUPPATHI, G. Chemical composition and binary mixture of human urinary stones using FT-Raman spectroscopy method. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 114, p. 650–657, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2013.05.029>.

SELVARAJU, R.; RAJA, A.; THIRUPPATHI, G. FT-Raman spectral analysis of human urinary stones. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 99, p. 205–210, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2012.09.004>.

TONANNAVAR, J. *et al.* Identification of mineral compositions in some renal calculi by FT Raman and IR spectral analysis. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 154, p. 20–26, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2015.10.003>.

WANG, Kai *et al.* Risk factors for kidney stone disease recurrence: a comprehensive meta-analysis. **BMC Urology**, v. 22, n. 1, p. 1–13, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12894-022-01017-4>.

YUAN, Xueyin; MAYANOVIC, Robert A. An Empirical Study on Raman Peak Fitting and Its Application to Raman Quantitative Research. **Applied Spectroscopy**, v. 71, n. 10, p. 2325–2338, 2017. Disponível em: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0003702817721527>.