



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

**TÍTULO: Técnicas instrumentales y químicas
de análisis de cálculos renales**

Autor: Claudia Sánchez Lou

Tutor: Cristina Coronel Gonzalo

Convocatoria: Junio

1.RESUMEN

La litiasis renal es una enfermedad que afecta entre el 1 y el 14% de la población mundial en función de la zona geográfica y condiciones tanto sociales como económicas de la misma.

Es una patología que se manifiesta con la aparición de cálculos renales los cuales presentan diferente etiología, composición, evolución, pronóstico y tratamiento. Aquí reside la importancia de analizarlos.

Hoy en día podemos encontrar diversos tipos de análisis tanto químicos como instrumentales para analizar los cálculos renales y poder así estimar su etiología, establecer el tratamiento que sea más eficaz para cada tipo y mitigar el riesgo de volver a padecer un episodio litiásico.

Se hará una revisión de las diversas técnicas de análisis, comparando cada una de ellas, sus respectivas ventajas y desventajas y determinando cuales presentan una mejor relación coste-efectividad.

Finalmente, se concluye que la técnica del estudio morfo constitucional basada en la combinación de la microscopía estereoscópica y la espectroscopía IR aporta conjuntamente, más información que el resto de técnicas y permite establecer una clasificación del cálculo de gran utilidad clínica y diagnóstica, siendo esta combinación a su vez, la metodología con mejor relación coste-efectividad.

2.INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

La litiasis renal es una enfermedad de distribución mundial por lo que existe un gran interés social para su erradicación. Existen múltiples factores que influyen en la distribución de la misma. La principal diferencia se presenta en la frecuencia de aparición de las distintas composiciones químicas en los grupos de cálculos urinarios.

Cada tipo de cálculo, en función de su composición, representa una determinada forma clínica de la enfermedad. Cada una de estas formas tiene una fisiopatología, evolución, pronóstico y tratamiento diferente. Aquí radica la importancia del análisis del cálculo. [1]

Hoy en día podemos encontrar diversos tipos de análisis tanto químicos como instrumentales para analizar los cálculos renales y poder así estimar su etiología y establecer el tratamiento que sea más eficaz para cada tipo.

El tracto urinario está compuesto por los riñones, uréteres, vejiga y uretra. A los riñones les compete la mayor parte de la actividad del aparato urinario. Sus funciones son principalmente, la regulación de líquido extracelular, regulación de la osmolaridad, el mantenimiento del balance iónico, la regulación del ph, la excreción de los productos de desecho y sustancia extrañas y la producción de hormonas.

Dentro de los riñones encontramos su unidad funcional, responsable de la purificación y filtración de la sangre: la nefrona. Este sistema ayuda a regular la cantidad de agua, sales, glucosa, urea y otros minerales en su cuerpo.

Para producir orina, las nefronas y los túbulos colectores desarrollan tres procesos básicos: filtración glomerular, reabsorción tubular y secreción tubular.

Una vez formada la orina, esta fluye desde la corteza exterior hasta la médula interna del riñón. La pelvis renal es el embudo a través del cual la orina sale del riñón y entra en la uretra.

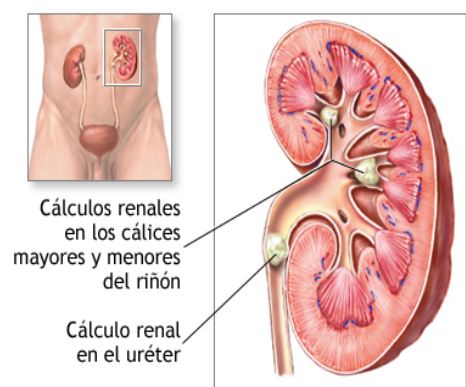
La orina tiene una capacidad limitada de dilución, es decir, puede contener diluidas ciertas sustancias hasta un determinado límite. En el momento en que estas sustancias son muy abundantes y la orina está demasiado concentrada, el calcio, la sal de ácido úrico y otros compuestos químicos disueltos en ella pueden dar lugar a la formación de cristales los cuales se van uniendo entre sí y forman un agregado que va aumentando de tamaño, conocido como cálculo renal.

Estos cálculos pueden provocar diversos problemas de salud tales como cólicos nefríticos, infecciones e hipertensión arterial entre otros. [2]

¿Qué es la litiasis renal?

Es una patología que se manifiesta con la aparición de cálculos renales, “concreciones sólidas compuestas por cristales inorgánicos y por matriz orgánica en proporción variable”, a nivel del tracto urinario.

Podemos diferenciar entre nefrolitiasis si estos aparecen en el riñón y urolitiasis si aparecen en cualquier punto del aparato urinario desde las papilas renales hasta el meato uretral. [3]



1. Cálculos urinarios

ADAM.

Manifestaciones clínicas

La litiasis renal puede ser asintomática, puede que los síntomas se presenten aislados y no tengan otras consecuencias o puede ser causa de alteraciones metabólicas que lleven a largo plazo a la destrucción del riñón.

Cerca de aproximadamente el 70% de pacientes que presenten esta enfermedad no requerirán de actuación urológica directa y lo solventarán sin esta. [1]

La principal manifestación clínica es el dolor del cólico nefrítico. La obstrucción de la vía excretora provoca un aumento de la presión intraluminal en el sistema colector, distendiendo las cavidades renales y el músculo liso de la estructura pieloureteral y de los elementos fibroconjuntivales de la cápsula renal. Inicialmente, estos cambios generan incrementos del flujo renal, diuresis y peristalsis ureteral homolateral, pero progresivamente, tras 24-48 horas, estos parámetros disminuyen de forma característica hasta niveles infrabasales. Paralelamente, la propia distensión del sistema colector estimula las terminaciones nerviosas localizadas a niveles mucoso y submucoso del mismo e induce la síntesis y liberación de prostaglandinas a nivel local. Ambos factores determinan finalmente la clínica dolorosa del cólico renal. Este dolor suele ir acompañado de vómitos, náuseas, palidez y sudoración.

En algunos casos, una prolongada e intensa hiperpresión dentro del sistema colector podría implicar una anulación muy severa del filtrado glomerular pero antes de que esto suceda puede producirse una rotura de la vía urinaria con extravasación de orina como mecanismo de defensa para disminuir la tensión intraluminal, y las presiones piélica y ureteral, y que incluso se inicia antes de la rotura de la vía.

El fracaso renal definitivo aparecerá cuando se produzca la obstrucción renal completa con anulación máxima del filtrado glomerular.

Otras manifestaciones clínicas que pueden aparecer son la infección urinaria, la hematuria aislada o asociada a proteinuria, la hipertensión arterial y la anuria calculosa. [4]

Diagnóstico

- Puño-percusión de la zona renal dolorosa
- Analítica de sangre para evaluar los niveles de fósforo, ácido úrico y otros electrolitos.

- Exámenes de la función renal, creatinina, aclaramiento de creatinina, ácido úrico, urea, etc.
- Análisis de orina para ver cristales y buscar glóbulos rojos en la orina.
- Técnicas analíticas y químicas para determinar el contenido del cálculo.
- Dependiendo del tipo de cálculo se pueden observar mediante TAC, radiografía simple de abdomen, ecografía renal etc. [4]

Epidemiología

La litiasis renal constituye una de las afecciones más comunes de la sociedad moderna. A pesar de los avances logrados en el tratamiento de esta enfermedad, múltiples estudios han hecho referencia a un incremento en la prevalencia de la misma en las últimas décadas. En Estados Unidos, según la Encuesta Nacional de Examen de Salud y Nutrición, la prevalencia de litiasis renal ha pasado del 3,8% entre 1976 y 1980 al 8,8% en el periodo comprendido entre 2007 y 2010 (10,6% en hombres vs. 7,1% en mujeres). Una situación similar se ha producido en otras partes del mundo tales como Japón, Alemania, Italia y España, donde varios trabajos también han señalado un aumento en la prevalencia y la incidencia de litiasis renal.

Además, es una enfermedad con alta tasa de recurrencia. Se estima que, tras un primer episodio, entre el 30% y el 50% recurrirá en los próximos 5-10 años.

Un estudio de prevalencia de insuficiencia renal crónica en España sobre una muestra aleatoria de población mayor de 19 años encontró una prevalencia de litiasis renal autodeclarada del 13,9%. En la misma línea, el estudio PreLiRenE objetivó una prevalencia del 14,6%, siendo del 16,3% en un trabajo similar donde se evaluó la prevalencia entre la población de 40 a 65 años residente en Andalucía. [5]

La litiasis renal, afecta entre el 1 y el 14% de la población en función de la zona geográfica y condiciones tanto sociales como económicas. La mayor tasa de incidencia se encuentra entre los 30-50 años siendo mayor en hombres.

La incidencia de litiasis en la población occidental está aumentando debido al estilo de vida acelerado, a la alimentación poco saludable y al aumento de prevalencia de sobrepeso/obesidad. [6,7]

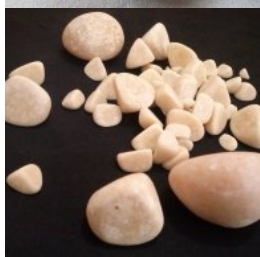
Las piedras de oxalato de calcio son el componente más frecuente (55-60%) en todos los grupos de edad, su frecuencia disminuye en los ancianos, siendo más frecuentes en hombres.

Las piedras de ácido úrico (6%) aumentan en proporción según la edad y son más comunes en hombres que en mujeres .

Las piedras de estruvita, fosfato amónico magnésico (15%) relacionadas con infección son raramente vistas en adultos.

Las litiasis menos frecuentes (1-3%) son las de cistina. [8,9]

Oxalato cálcico



Cistina

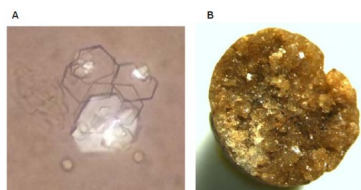
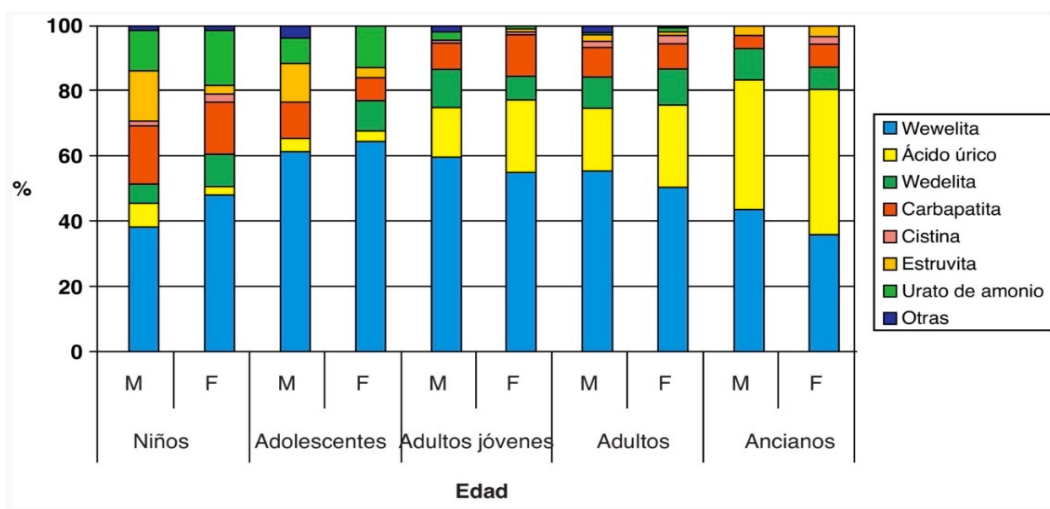


Figura 1. A) Cristales de cistina observados con luz polarizada en el primer análisis de cristalurina realizado a la paciente B) Sección de cálculo de cistina observado por epimicroscopía, obtenido tras NLPC de 11x10x8 mm.

Estruvita

Ácido úrico



2. Ejemplo porcentajes tipo de cálculo en función de la edad y sexo. Estudio de cálculos renales población tunecina, los cuales tienden a evolucionar en la misma dirección que en países industrializados [10]

Factores que influyen en la formación de cálculos

El clima, debido a la sudoración y pérdida de agua que provoca una mayor concentración de metabolitos en orina, siendo más frecuente su desarrollo en climas mediterráneos y desérticos.

La dieta influye siendo mayor la incidencia en dietas con alto contenido de proteínas y sal. La ingestión excesiva de fuentes de purina, oxalatos, fosfatos cálcicos y otros elementos también afectan a la creación de los mismos.

El agua disminuye el riesgo de litiasis, dando lugar a orinas más diluidas, pero siendo mayor el riesgo en zonas con aguas de mayor dureza.

Las malformaciones del tracto genitourinario, la obesidad y la ausencia de ejercicio aumentan la predisposición a desarrollarlos.

Las enfermedades metabólicas asociadas a una mayor predisposición de desarrollar urolitiasis son: Hipercalciuria idiopática, Hiperparatiroidismo, Sarcoidosis, Acidosis tubular renal, Cistinuria, etc.

La presencia de otras enfermedades y medicamentos como el aumento de esteroides en sangre por el síndrome de Cushing o por tratamientos inmunodepresores, el exceso de vitamina D, la lisis celular y la gota son algunos de los ejemplos que aumentan la probabilidad de sufrir litiasis.

Por último, las infecciones causadas por microorganismos ureolíticos como Proteus, Klebsiella, Pseudomonas, alcalinizan la orina y favorecen el desarrollo de cálculos de estruvita. [11,12]

Formación

Los cálculos renales son de origen multifactorial y se asocian con anomalías genéticas e infecciones que favorecen las etapas litogénicas: nucleación, agregación, crecimiento y fijación del cálculo. Actualmente se admite que la nucleación es el proceso inicial para la formación de los cristales que luego formarán el cálculo urinario definitivo. Este proceso puede ser inducido por una variedad de sustancias o situaciones:

- Aumento de los solutos.
- Modificación del pH urinario. Un pH urinario bajo favorece la formación de cálculos de ácido úrico pues su pK en orina es 5,5. Sin embargo, un pH alcalino favorece la génesis de los de fosfato cálcico.

– Disminución de los inhibidores de la cristalización. Una vez que se ha formado el cristal, éste queda retenido en el aparato urinario y se produce su crecimiento mediante la agregación de nuevos cristales [3]

Clasificación

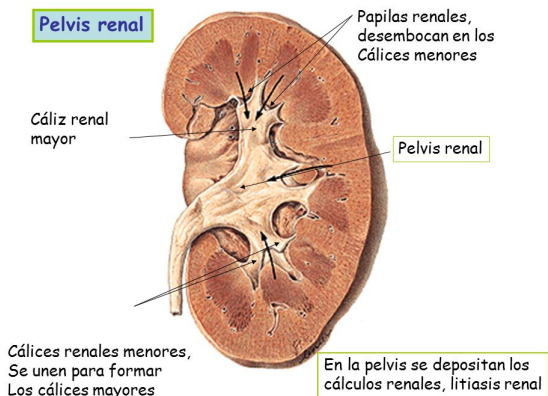
Atendiendo al **lugar de formación** del cálculo, los podemos clasificar en cálculos formados sobre la pared renal (especialmente la papila) llamados cálculos **papilares**, y los cálculos desarrollados en la cavidad renal, denominados cálculos de **cavidad**.

Si atendemos a su **composición química** se pueden clasificar, según el tipo en:

- Cálculos simples: las características de su composición son constantes. Están formados por un solo compuesto, por ello, muchas veces son representativos de una patología determinada como por ejemplo ocurre en la cistinuria.
- Cálculos mixtos: Están formados por distintos componentes. Suelen presentarse en estratos de diferente composición diferenciándose núcleo y corteza lo que indica que se han ido formando en diferentes procesos (infecciones urinarias, cambios dietéticos, tratamientos, etc).

Según el grupo, se pueden clasificar en función de la composición referida al núcleo en: cálculos de oxalato, de ácido úrico y uratos, de fosfato, de fosfato amónico magnésico o urato amónico y otros (donde se engloban composiciones de cistina, cálculos ficticios y de materia orgánica).

Según el subgrupo: se clasifican teniendo en cuenta la composición completa del cálculo y según la ubicación de los diferentes compuestos, sea en el núcleo, capas intermedias o corteza. [13]



3.Localización de los cálculos papilares y de cavidad

3.OBJETIVO

El objetivo de este trabajo será comparar las diferentes técnicas tanto instrumentales como químicas utilizadas en el análisis de cálculos renales y determinar mediante la revisión de cada una de éstas sus ventajas e inconvenientes, así como determinar cuál o cuales presentan mejor relación coste- efectividad.

4.METODOLOGÍA

Para llevar a cabo esta revisión bibliográfica, se inició la búsqueda de artículos y estudios que abordasen el uso de las diferentes técnicas instrumentales y químicas para el análisis de cálculos renales.

La búsqueda fue realizada en las bases de datos Pubmed, Scielo, Elsevier, Science Direct y Google académico.

Las palabras clave introducidas en la búsqueda fueron las siguientes:

-En español: (“litiasis renal” O “cálculos renales” O “espectroscopia IR” O “Espectroscopía Raman” O “cólico nefrítico” O “Bioquímica urinaria” O “análisis morfo constitucional” OR “técnicas instrumentales” O “Difracción Rayos X” O “epidemiología litiásica” O “Factores etiológicos” O” Estructura del cálculo”).

-En inglés: (“kidney stones” OR “Incidence urolithiasis” OR “Infrared and Raman spectroscopy” OR “urinary calculi” OR “calculi analysis” OR “Morphological kidney stones”)

Se continuó con la búsqueda de artículos epidemiológicos de la litiasis renal, artículos que evaluaran los cambios en función de la edad y del sexo de los cálculos renales y artículos sobre la patología, etiología de la litiasis renal y formación de cálculos renales.

5.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El estudio de la composición y microestructura de los cálculos renales ha permitido obtener información crucial sobre los mecanismos físico-químicos de su formación.

Analizar los cálculos ha sido un paso esencial para la clasificación de cada individuo en una determinada forma clínica y poder establecer los tratamientos frente a la enfermedad litiásica y evitar recidivas.

La única forma de mitigar el riesgo de volver a padecer un episodio litiásico es identificar el tipo de cálculo y seguir el tratamiento estipulado para dicha clase.

La composición y estructura del cálculo proporciona además información fundamental relativa a la patogénesis de la enfermedad, incluyendo anomalías metabólicas, presencia de infección, posibles artefactos e incluso metabolitos de ciertas drogas.

Por ello se han desarrollado a lo largo de los años diferentes técnicas de análisis de las cuales hablaremos a continuación. [13]

a) Microscopio estereoscópico (MEST)

En primer lugar, se realiza un estudio macroscópico del cálculo con una lupa binocular o microscopio estereoscópico ya que es imprescindible tener la descripción del cálculo para contrastarla con el resultado del análisis de su composición.

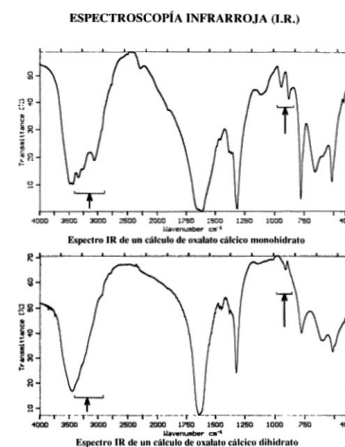
En la descripción externa se anotarán el aspecto de la superficie (lisa, rugosa, con espículas...), el color adquirido por la pigmentación de las vías urinarias (mayor intensidad indica un mayor tiempo de cristalización), peso, dureza y consistencia (a mayor dureza, el cálculo se forma más lentamente y los cristales están más agrupados y viceversa) y estudio petrográfico en cálculos coraliformes e iatrogénicos.

Tras realizar la descripción externa del cálculo este se fractura para ver la estructura interna: si existe o no núcleo visible, la disposición de los componentes, etc. En el núcleo se puede ver material mucoproteico, drogas, metabolitos, placas cálcicas, etc y en la envoltura pueden aparecer distintos patrones: multifásico, amorfo, microcristalino, laminar, radial, etc.

Una vez realizada la observación se procederá al análisis de los componentes del cálculo. [13]

b) Espectroscopía IR

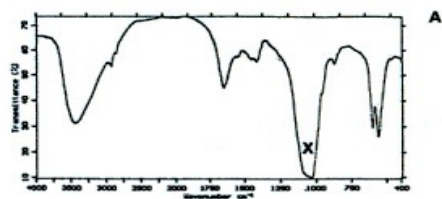
Se basa en la interacción de la luz IR con los enlaces de las moléculas de los componentes del cálculo. La radiación electromagnética produce vibración atómica con una energía de absorción que genera bandas específicas en el espectro IR a una determinada longitud de onda para cada tipo de enlace.



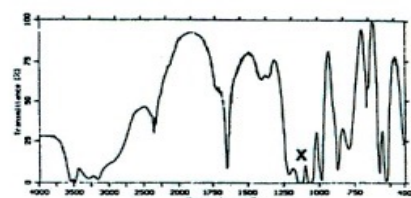
4. Espectros IR: Oxalato cálcico monohidratado y dihidratado

La correlación de los máximos de absorción específicos observados para la sustancia desconocida con los de los espectros de referencia permite la identificación de la muestra.

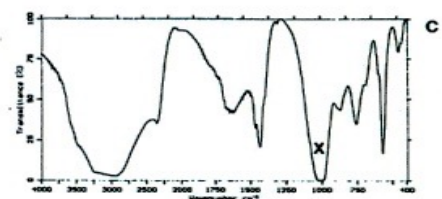
-La espectroscopia infrarroja permite distinguir perfectamente entre un cálculo de oxalato cálcico monohidrato (COM) y un cálculo de oxalato cálcico dihidrato (COD). Así, las bandas de las zonas comprendidas alrededor de 3.500 y 750 cm⁻¹ son claramente diferentes para ambos compuestos.



Espectro IR de un cálculo de hidroxiapatita/fosfocarbonato cálcico



Espectro IR de un cálculo de brushita



Espectro IR de un cálculo de fosfato amónico magnésico

5. Espectros IR: hidroxiapatita, brushita y fosfato amónico magnésico

-Todos los cálculos que contienen fosfatos (fosfatos cálcicos, magnésicos o amónico magnésicos) presentan una banda muy intensa alrededor de 1.000 cm⁻¹ que permite su fácil identificación, incluso en mezclas con oxalato cálcico mono o dihidrato.

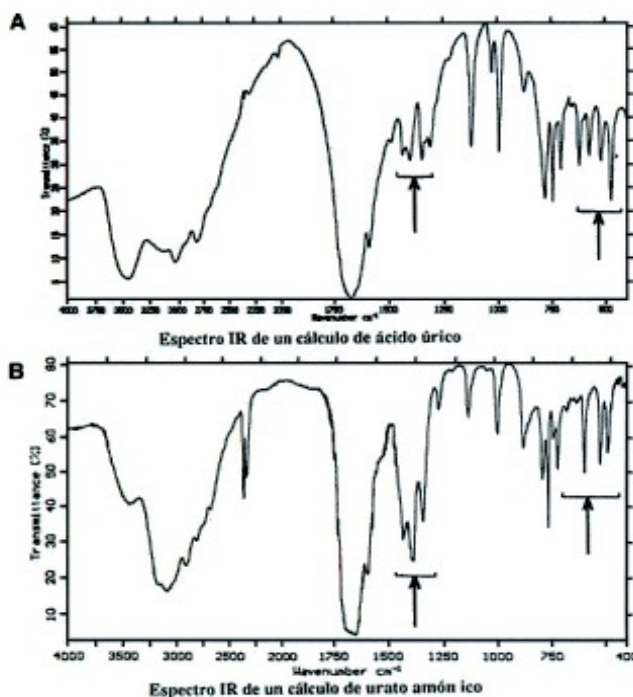
-Los cálculos puros de brushita, muy poco frecuentes, presentan también un espectro infrarrojo muy característico que permite distinguirlos claramente de los de hidroxiapatita o fosfato amónico magnésico

-Los cálculos constituidos exclusivamente por hidroxiapatita son menos frecuentes, aunque también pueden formarse, y por su apariencia pueden confundirse con los de oxalato cálcico monohidrato o incluso con cálculos de ácido úrico.

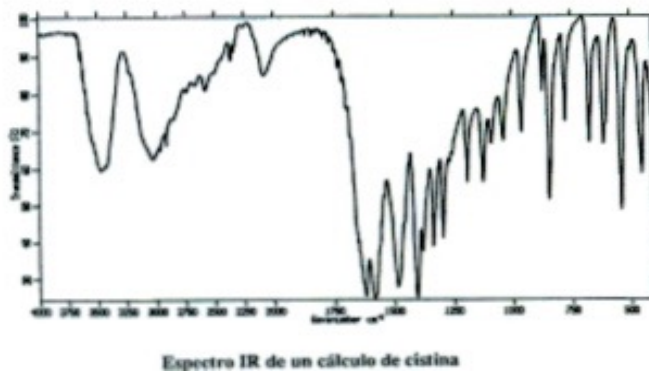
-Los cálculos fosfáticos más frecuentes son los de origen infeccioso, constituidos generalmente por mezclas de fosfato amónico magnésico e hidroxiapatita. Suelen ser de tamaño considerable, para la determinación de su composición se deben obtener los espectros infrarrojos de distintas zonas, ya que los cristales de hidroxiapatita y fosfato amónico magnésico están distribuidos irregularmente. la información suministrada por la espectroscopia infrarroja debe complementarse con datos clínicos (por ejemplo,

existencia de infección urinaria) o por la observación del cálculo mediante microscopía electrónica de barrido.

-Los cálculos de ácido úrico se identifican por su morfología y color rojizo característicos. El espectro infrarrojo de estos cálculos es, sin embargo, muy característico y por ello permite su identificación sin ninguna dificultad y además es posible diferenciarlo del espectro infrarrojo correspondiente a los cálculos de urato amónico, ya que la zona de bandas comprendidas entre 300 y 500 cm^{-1} es distinta para ambos compuestos.



-Los cálculos de cistina, que generalmente se distinguen con cierta facilidad por su aspecto céreo, presentan además un espectro infrarrojo característico que permite identificarlos con toda claridad.



6. Espectros IR: urato amónico y cistina

-Identificación de cálculos de composición muy poco frecuente, como en el caso de los cálculos de sílice, carbonato cálcico, urato cálcico, triamterene (y otros de origen medicamentoso), materia orgánica, etc. Esta fácil identificación hay que atribuir a la especificidad del espectro infrarrojo de un producto puro. De hecho, el espectro infrarrojo de una sustancia pura suele calificarse como su «huella dactilar» [11]

La espectroscopia **IR de reflectancia total atenuada con transformada de Fourier** (ATR-FT-IR) es una nueva espectroscopia IR. Está basada en la reflexión interna que se produce cuando una radiación infrarroja entra en un cristal ATR transmisor y de alto índice de refracción.

El cristal está diseñado para permitir una reflexión interna total que crea una onda evanescente sobre la superficie del cristal. Esta onda se extiende a la muestra registrándose el espectro de infrarrojo del analito.

En las regiones del espectro de infrarrojos en las que la muestra absorbe energía, la onda evanescente se atenúa. El haz atenuado vuelve al cristal, sale a continuación por el extremo opuesto del cristal y se dirige al detector en el espectrómetro de infrarrojos. El detector registra el haz de infrarrojos atenuado como una señal del interferograma, la cual se puede usar para generar un espectro de infrarrojos. [14]

c) Espectroscopía Raman-FT

Los espectros Raman son al igual que los IR, “huellas dactilares” que pueden ser potencialmente útiles para la identificación de la composición de los cálculos renales.

El efecto Raman se explica con la dispersión de la luz, cuando una radiación electromagnética interacciona con una nube electrónica deformable(polarizable).

Tanto la espectroscopia de IR como la de Raman miden energías vibracionales, pero estas se basan en diferentes reglas de selección siendo así complementarias.

En general, las señales FT-Raman son complementarias a las obtenidas en FTIR. [15,16,17]

d) Microscopía electrónica de barrido (ME)

Se observa una imagen en tres dimensiones de la superficie de la muestra.

e) Difracción de Rayos X (DRX)

Método de análisis basado en la difracción de un haz monocromático de RX al atravesar la estructura del cristal. El difractograma obtenido es característico de cada especie cristalina y ello permite la diferenciación entre ellas.

La difracción de rayos X identifica los constituyentes de un cálculo a partir de su patrón de difracción o «huella dactilar» producida por un bombardeo sobre el material cristalino con un haz monocromático de rayos X. Cuando los rayos X penetran distancias intramoleculares en sólidos cristalinos sufren difracciones o reflexiones siguiendo patrones característicos relacionados con la estructura del cristal. Los rayos X reflejados se pueden utilizar para producir un difractograma compuesto por los picos o máximos que se generan a medida que la muestra gira a través de una sucesión de ángulos. Esto permite la identificación definitiva de una sustancia cristalina desconocida. [11]

f) Métodos químicos (MQ)

El análisis químico cualitativo se basa en la detección, mediante reactivos específicos, de aniones, cationes y moléculas que forman parte del cálculo.

En un estudio del control de calidad externo remitido por 100 laboratorios desde 1980 a 2001, se vio que inicialmente el 80% utilizaban métodos químicos y en el 2001 solo un 13%, en contraste con el aumento de la espectroscopia IR hasta un 79%. La difracción de RX solo se utilizaba en un 5-9% por el elevado coste. Con los métodos químicos se detectaron una alta cantidad de errores (6,5-94%) tanto para los cálculos puros como para las mezclas binarias, mientras que en IR y RX solo se dieron errores puntuales. Por ello, la mayoría de los laboratorios dejaron de utilizar métodos químicos que ya se consideran obsoletos. Aun así, en las mezclas se dan aproximadamente un 10% de errores con el IR y RX por lo que se hace imprescindible la participación en un control de calidad externo. [18]

g) Termografía

Al someter al cálculo a calor se producen pérdidas de peso específicas de cada mineral a una temperatura determinada lo que permite obtener un diagrama termogravimétrico.

h) Cromatografía

Se han utilizado HPLC, Gases, Capa fina etc. Se basa en la separación de los componentes del cálculo entre una fase móvil y una estacionaria. Es útil para detectar componentes orgánicos, así como drogas.

i) Espectroscopía de absorción atómica

También se ha utilizado para determinar la composición de cálculos, pero es muy laboriosa. Es una técnica útil en la identificación de elementos minoritarios, se prepara una porción de la muestra en fase líquida y se vaporiza en una cámara de grafito detectándose los diferentes elementos que se hallan en concentraciones muy bajas. Esta técnica está, hoy día superada, por la emisión de plasma. Mediante esta técnica pueden ser determinados multitud de diferentes elementos en un único ensayo: hierro, cobre, zinc, selenio, aluminio, sílice, cobalto, etc. [1]

Las principales ventajas y desventajas de las diferentes técnicas de análisis de los cálculos renales explicadas anteriormente, se ven reflejadas en la siguiente tabla:

Tabla 1. Ventajas, desventajas y preparación de muestras de las diferentes técnicas de análisis.

	VENTAJAS	DESVENTAJAS	PREPARACIÓN DE MUESTRAS
MEST	<ul style="list-style-type: none"> Facilita la identificación de las estructuras cristalinas y morfológicas Bajo coste Permite distinguir: cálculos enteros, fragmentos -o incluso falsos cálculos-, la presencia o no de zonas umbilicadas (indicadoras del origen papilar del cálculo), el color, la estructura superficial, las características de los cristales y la heterogeneidad o no de los cálculos si estos son múltiples. El examen de las secciones tiene como objetivo conocer la estructura interna del cálculo y conducirá a la identificación del núcleo y la secuencia de precipitación de los distintos componentes. 	<ul style="list-style-type: none"> Personal especializado 	<ul style="list-style-type: none"> Material sobre la concavidad de una base que modelamos con "plastilina" blanca o negra. Sobre ella el material calculeo puede manipularse con unas pinzas de punta fina. Si el material es muy abundante y/o pulverulento lo colocamos sobre papel. Fracturación para conocer la estructura interna. Colocamos el cálculo en un cuadrado de papel sobre la base dura, apoyamos la hoja cortante sobre el cálculo, y con el martillo damos un golpe seco de forma que la energía se transmita a la línea de corte manteniendo sujeta la hoja para que no penetre.
IR	<ul style="list-style-type: none"> Específica, rápida y versátil Especímenes de distintos tamaños Identificación tanto de sólidos cristalinos como de materiales no cristalinos (sustancias amorfas y grasas) Identificación de drogas y sus metabolitos en cálculos urinarios Identificación de artefactos, Artefactos comunes, otros fácilmente identificables por espectroscopia infrarroja son el cuarzo y el caolín, que tienen ambos espectros altamente característicos. Precisa Menor coste que otras técnicas de análisis óptico. Compuestos tales como la carbonatoapatita y la hidroxiapatita pueden generar líneas débiles y difusas en un patrón de absorción de difracción de rayos X, pero pueden identificarse y medirse mediante espectroscopia infrarroja. 	<ul style="list-style-type: none"> Dificultad en la diferenciación y análisis cualitativo en algunos tipos de cálculos como en ácido úrico, purinas y fosfatos cálcicos. En algunos casos es difícil detectar pequeñas cantidades de componentes como oxalato cálcico, que se diferencia mal entre monohidratado y dihidratado, o entre uratos y ácido úrico dihidratado con ácido úrico. Muestras muy delgadas para que sean transparentes al IR Difícil obtener espectros por debajo de 100 cm⁻¹ Interferencias: agua, tiene una fuerte absorción en el IR 	<ul style="list-style-type: none"> Muestra mezclada con un material inactivo de IR como potasio bromuro antes del análisis debido a que el material en cuestión debe ser transparente a la radiación incidente.
IR-FT	<ul style="list-style-type: none"> Empleo de muestras blandas y escasas Facilidad de preparación de muestras Versatilidad Rápida limpieza En general es insensible al grosor de la muestra, para muestras gruesas o muy absorbentes Espectro de mayor calidad cuando la intensidad de la señal es limitada. 	<ul style="list-style-type: none"> Bandas menos intensas respecto al IR convencional en las regiones de longitud de onda más corta (números de ondas altos) porque, en general, estas radiaciones penetran menos en la muestra y, por tanto, se absorben menos. Interferencias: agua, tiene una fuerte absorción en el IR 	<ul style="list-style-type: none"> Facilidad a la hora de preparar la muestra, no requiere mezclarla con un material inactivo de IR
FTIRAM	<ul style="list-style-type: none"> Reducción o eliminación de la fluorescencia Las señales FT-RAMAN son más estrechas que FTIR permitiendo mayor selectividad, resolución y simplicidad en los espectros Alta resolución Detección a baja frecuencia Pocas interferencias derivadas del agua o del vidrio Permite acceder a la zona del infrarrojo cercano comprendida entre 400 y 70 cm⁻¹ Fácil preparación de muestra Se detectan todas las longitudes de onda al mismo tiempo. Proporciona una mejora en la resolución, en el tiempo de adquisición del espectro y en la razón señal-ruido 	<ul style="list-style-type: none"> Absorción e el IR cercano Baja sensibilidad Interferencias: pocas interferencias derivadas del agua o del vidrio Interferencias: reducción y/o eliminación de la fluorescencia debida a impurezas presentes en la muestra. En Raman convencional el espectro se oculta en uno de fluorescencia 	<ul style="list-style-type: none"> Análisis realizado directamente sobre la muestra a analizar sin necesidad de ningún tipo de preparación especial
MQ	<ul style="list-style-type: none"> Bajo coste Rapidez 	<ul style="list-style-type: none"> Requiere la destrucción del cálculo Se necesita alta cantidad de muestra. Variable sensibilidad y especificidad que generan muchos falsos positivos y negativos. No informa de la fase cristalina ni de la estructura. Es poco útil para cuantificar. No diferencia oxalato cálcico monohidratado del dihidratado. Tiene baja sensibilidad para detectar ácido úrico, urato amónico y urato sódico Errores: la identificación de los componentes del cálculo se realiza de forma indirecta, es decir, se identifican iones a partir de los cuales se infieren las posibles especies moleculares 	<ul style="list-style-type: none"> Una pequeña cantidad de cálculo urinario (o renal) es triturado y pulverizado. En esta muestra, tan homogénea como sea posible, se llevan a cabo las siguientes determinaciones semicuantitativas: calcio, magnesio, amonio, oxalato, fosfato, ácido úrico y cistina. El porcentaje de cada componente es determinado por comparación visual con la escala de color contenida en un kit.
DRX	<ul style="list-style-type: none"> Preparación fácil Medida automática. Evaluación semiautomática del difractograma Análisis cuantitativo. Diferenciación exacta de todos los componentes cristalinos y mezclas de materiales cristalinos. idónea en la litiasis fosfática para distinguir entre lestruvita y la brushita o para confirmar su ausencia. Y en la litiasis úrica para diferenciar el ácido úrico anhidro del ácido úrico dihidrato. 	<ul style="list-style-type: none"> Baja capacidad para identificar algunos metabolitos o materiales amorfos y constituyentes presentes en cantidades minoritarias o en trazas Alto coste, precisan de instalaciones con condiciones de seguridad especiales Tiempo para cada medida es superior a 30 minutos. Se pueden identificar las apatitas cristalinas, pero generalmente dan lugar a patrones de difracción pobres debido a que se encuentran en un estado microcristalino y dan bandas de difracción anchas y débiles 	<ul style="list-style-type: none"> Pulverización de la muestra
ME	<ul style="list-style-type: none"> Útil en el campo de la investigación para conocer los diferentes patrones de cristalización de cada composición. (Suele ir acoplado con Difracción de rayos X) Permite cuantificar aquellos elementos con un número cuántico superior al del oxígeno y así se puede estudiar el cálculo capa a capa. Permite un amplio rango de aumentos (de 10 a 20.000 o más), posibilitando obtener imágenes detalladas 	<ul style="list-style-type: none"> Elevado coste Alta complejidad Identifica solo la morfología No permite detectar los 8 primeros elementos de la tabla periódica El estudio de cálculos mediante SEM y sin disponer de EDS puede conducir a confusiones, ya que hay distintos compuestos que presentan formas cristalinas parecidas 	<ul style="list-style-type: none"> Las muestras destinadas al SEM han de cumplir dos condiciones: deben estar secas y ser conductoras. El proceso de secado ha de llevarse a cabo preservando al máximo la estructura original de la muestra. Para ello tenemos dos alternativas: usar el método clásico de fijación y deshidratación química que el usuario realiza en su laboratorio y que finaliza con el secado por punto crítico en nuestras instalaciones, o utilizar el moderno método de fijación física por criofijación que ya está acoplado a uno de los microscopios.

Tabla 2. Comparación de las técnicas en función de la detección de las características del cálculo y coste.

Tabla 1 Características de distintos métodos utilizados en el análisis del cálculo

Métodos	Composición química	Especie cristalina	Características morfológicas	Coste
Métodos físicos				
<i>Ópticos</i>				
Microscopía estereoscópica	-/+	+	+	+
Microscopía electrónica de barrido	-/+	+	++	+++
Espectrometría de infrarrojo	+	+	-	++
<i>Espectrales</i>				
Difracción de rayos X ^a	+/-	+	-	+++
Microscopía electrónica de barrido acoplada a EDX	+/-	+	+	+++
Métodos químicos				
<i>Estuches de reactivos comerciales</i>	-/+	-	-	+

Existe un gran número de métodos para el análisis del cálculo, pero su capacidad para detectar todas las características no es equivalente.

Los métodos químicos han mostrado reiteradamente su escasa fiabilidad en numerosos programas de control de calidad, con unos porcentajes de error en la identificación de algunos componentes superiores al 90%.

La EIR: Presenta una gran cantidad de ventajas, una elevada calidad analítica y practicabilidad, y se considera una metodología de gran utilidad en el estudio del cálculo.

El análisis por MEST facilita la identificación de las estructuras cristalinas y morfológicas con un bajo coste, pero requiere personal especializado.

La microscopía electrónica de barrido permite un amplio rango de aumentos (de 10 a 20.000 o más), obteniendo imágenes muy detalladas y que acoplada a EDX proporciona la composición elemental de la zona que se analiza y la identificación del material observado. Aun así, es una tecnología sólo justificable para situaciones muy particulares, lo que la relega a laboratorios de investigación.

La difracción por rayos X es una técnica que se ha relegado a laboratorios de investigación debido a su alto coste, aunque es reconocida universalmente como óptima en la identificación de las sustancias cristalinas de los cálculos.

Para que el análisis del cálculo aporte una información útil en la identificación de los factores que han determinado su formación debe ser capaz de identificar, de forma

sistemática y estandarizada, todas aquellas características del mismo que han mostrado correlación con la etiopatogenia de la enfermedad: composición química, especies cristalinas, características morfológicas, secuencia de precipitación de los componentes y cantidad relativa de cada uno de ellos.

Ninguna técnica analítica es capaz, por sí sola, de reconocer todas estas características. Por ello sería una buena opción el llamado **análisis morfoconstitucional**, basado en la combinación de dos técnicas: la MEST, para detectar los aspectos morfológicos y la secuencia de precipitación de los componentes del cálculo y la EIR, para la identificación y cuantificación de los constituyentes.

El AMC es una técnica efectiva que permite identificar los mecanismos etiopatogénicos de la litiasis en el 98% de los casos. [19]

6.CONCLUSIÓN

Para la elaboración de recomendaciones metodológicas en las guías clínicas, se deben tener en cuenta tanto las características del material a analizar como las ventajas y los inconvenientes de las diferentes técnicas de análisis disponibles en la actualidad.

Así mismo, para poder conocer los mecanismos etiopatogénicos de la litiasis y llevar a cabo la terapia más adecuada frente a esta patología, se debe utilizar una metodología de análisis de cálculos renales lo más apropiada posible.

El análisis del cálculo mediante la técnica del estudio morfoconstitucional aporta más información que el resto de técnicas y permite establecer una clasificación del cálculo de gran utilidad clínica y diagnóstica.

Es una técnica que permite la tipificación del cálculo mediante la aplicación sistemática y estandarizada de la MEST y la EIR, siendo esta combinación la metodología más coste-efectiva. Este tipo de análisis realiza en laboratorios especializados y con experiencia en esta metodología.

Sin embargo, como en cualquier otra área de conocimiento, para avanzar en el conocimiento de los mecanismos etiopatogénicos de la enfermedad y, por lo tanto, en su tratamiento es imprescindible un abordaje pluridisciplinar de la enfermedad.

7.BIBLIOGRAFÍA

1. Ávila Padilla S. Aproximación al estudio bioquímico y epidemiológico de la litiasis urinaria a través de un nuevo sistema de clasificación de cálculos urinarios. Tesis doctoral, Universidad Complutense de Madrid ,1998.
2. Gómez Sotomayor E., Serrano Ortega B., Urología básica para estudiantes de medicina, Junio 2016.
3. Gómez Ayala A. Litiasis renal: Etiopatogenia, clínica y factores de riesgo. Farmacia Espacio de Salud Vol. 22, Núm. 2, Febrero 2008.
4. Esquena S. Cólico renal: Revisión de la literatura y evidencia científica. [online] Disponible en : http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0210-48062006000300004 [Accessed 25 Mar. 2006].
5. Gomez E., Requena M. y Carrasco J. Epidemiología de la litiasis en España: nuevos escenarios. UGC Urología. Hospital Universitario Reina Sofía/IMIBIC, 2017.
6. Grases Freixedas F., Conte Visús A., Costa-Bauzá A. y Ramis Barceló M. Tipos de cálculos renales. Relación con la bioquímica urinaria. Arch. Esp. de Urol., 54, 9 (861-871), 2001.
7. Sánchez-Martín F.M., Millán Rodríguez F., Esquena Fernández S., Segarra Tomás J., Rousaud Barón F., Martínez-Rodríguez R., Villavicencio Mavrich H. Incidence and prevalence of published studies about urolithiasis in Spain. Servicio de Urología. Fundación Puigvert, Barcelona., Actas Urol Esp vol.31 no.5 , May. 2007.
8. Sarroca Farrera M. y Arada Acebes A. Litiasis renal: Actualización en medicina de familia , disponible en http://amfsemfyc.com/web/article_ver.php?id=1439
9. Costa-Bauza A., Ramis M., Montesinos V., Grases F., Conte A., Piza and Pieras E. Type of renal calculi :variation with age and sex. World Journal of Urology; 25(4); pp 415-421, 2007.
10. Alaya Nouri, Belgith, Saad, Hell, Hellara, Jouini and Naiiar. Cambios en el tipo de cálculos renales según sexo y edad en pacientes tunecinos. Actas urológicas españolas, [online] 36 (3) Accessed 25 May 2017.
11. García-Perdomo A., Benavidez Solarte P. y Posada P. Fisiopatología asociada a la formación de cálculos en la vía urinaria . Vol 25 n°2 , Agosto 2016.
12. Camacho J. y Vila J. (2008) Litiasis Renal: Protocolos Diagnóstico Terapéuticos de la AEP: Nefrología Pediátric. Avaiable at: https://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/17_3.pdf [Accessed 25 May 2017]

13. Grases Freixedas F., Conte Visús A. y Costa Bauzá A. Análisis y estudio de los cálculos renales. Urol. Integr. Invest. Volumen 2, pp. 477-487.
14. Contreras Q., Héctor J., Trujillo P., Hugo A., Arias O., Gerardo Pérez C., José L., Delgado F., Ezequiel. Espectroscopia atr-ftir de celulosa: aspecto instrumental y tratamiento matemático de espectros e-Gnosis, vol. 8, pp. 1-13, Universidad de Guadalajara Guadalajara, México, 2010.
15. Carmona P., Bellanato J., Escolar E. Infrared and Raman Spectroscopy of Urinary Calculi: A Review Received 2 January 1997; revised 11 April 1997; accepted 29 May 1997.
16. Pérez J., Murillo R. y Gómez R. Espectroscopías infrarroja y raman <http://sistemas.fciencias.unam.mx/~fam/EsRaman.pdf>
17. Gutierrez Cano V., Otero Marquez J. Espectroscopia Raman: Fundamento y aplicaciones. Diciembre 2014 10.13140/RG.2.1.5015.5362
18. Pineda D., Cabezas A., Ruíz G . Análisis de las muestras de orina . Editado por Labcam, 2011.
19. Gràcia-Garcia S., Millán-Rodríguez F., Rousaud-Barón F., Montañés-Bermúdez R., Angerri-Feu O., Sánchez-Martín F., Villavicencio-Mavrich H. and Oliver-Samper A. Why and how we must analyse urinary calculi Actas Urológicas Españolas (English Edition), Volume 35, Issue 6, Pages 354-362, June 2011.