

Universidade Federal do Espírito Santo
Centro de Ciências Exatas
Departamento de pós-graduação em Física

Eduardo Bravim Maifrede

Estudo das fases de pedras de rins de oxalato
de cálcio monohidratado e determinação de
uma nova forma polimórfica.

Vitória

2011

Universidade Federal do Espírito Santo
Centro de Ciências Exatas
Departamento de pós-graduação em Física

Eduardo Bravim Maifrede

Estudo das fases de pedras de rins de oxalato
de cálcio monohidratado e determinação de
uma nova forma polimórfica.

Dissertação apresentada ao programa
de pós-graduação em física da
Universidade Federal do Espírito
Santo, como requisito parcial para
obtenção do título de mestre em
Ciências Físicas.

Orientador: Prof Dr Humberto Belich Jr

Vitoria

2011

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

M217e Maifrede, Eduardo Bravim, 1986-
Estudo das fases de pedras de rins de oxalato de cálcio monohidratado e determinação de uma nova forma polimórfica / Eduardo Bravim Maifrede. – 2011.
54 f. : il.

Orientador: Humberto Belich Junior.
Dissertação (Mestrado em Física) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Exatas.

1. Rins - Calculos. 2. Rietveld, Método de. 3. Raios X – Difração. 4. Síncrotron. I. Belich Júnior, Humberto. II. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Exatas. III. Título.

CDU: 53



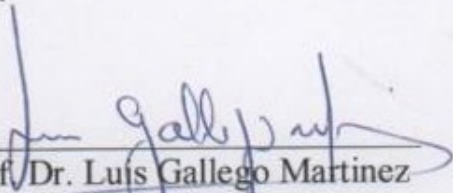
UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA

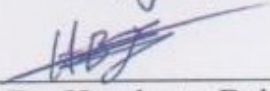
“Estudo das fases de pedras de rins de oxalato de cálcio monohidratado e determinação de uma nova forma polimórfica”

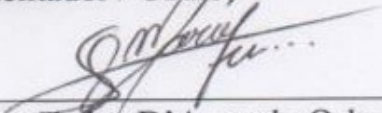
Eduardo Bravim Maifrede

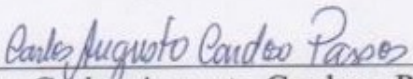
Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Física da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Física.

Aprovada por:


Prof. Dr. Luis Gallego Martinez
(IPEN)


Prof. Dr. Humberto Belich Junior
(Orientador / UFES)


Prof. Dr. Marcos Tadeu D'Azeredo Orlando
(UFES)


Prof. Dr. Carlos Augusto Cardoso Passos
(UFES)

Vitória-ES, 11 de agosto de 2011.

Dedicatória

À minha namorada Jeniffer
pela compreensão e apoio.
À minha família pelo incentivo.

Agradecimentos

Quero agradecer à Capes e ao CNPq, pelo apoio financeiro, ao Laboratório Nacional de Luz Síncrotron.

Gostaria de agradecer especialmente:

Ao Dr. Marcos Tadeu D'Azeredo Orlando pelo incentivo.

Ao Dr. Humberto Belich Júnior pela orientação.

Ao Dr. Hamilton P. S. Corrêa pela importante colaboração com o trabalho.

Aos colegas do grupo pelo apoio.

Resumo

Este trabalho descreve uma cuidadosa análise de fases cristalinas presentes em pedras de rim utilizando difração de raios X. Entre essas amostras, uma foi escolhida considerando que era monofásica. Essa amostra composta por oxalato de cálcio monohidratado foi submetida à técnica de difração de raios X na linha de alta definição XPD no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS) – Campinas-Brasil. Foi realizado um refinamento de Rietveld com os dados obtidos da alta resolução do raio-X síncrotron. O resultado final deste refinamento indicou que o oxalato de cálcio monohidratado é uma forma polimórfica comprada com a ficha internacional ICCD CIF 30782, que foi usada no refinamento como proposta inicial. Assim, como proposta final do presente trabalho uma nova ficha para descrever esta nova forma polimórfica do $\text{Ca}(\text{CO}_2)(\text{H}_2\text{O})$.

Abstract

This work describes a carefully crystallographic phase analysis presented in kidney stones using X ray powder diffraction technique. These kidney stones, donated by Vitória citizen, were cataloged and separate according with composition. Among the samples, one representative was classified as monophasic. This sample composed by monohydrated calcium oxalate was submitted to X ray Synchrotron Radiation at XPD beam (LNLS) - Campinas – Brasil. A Rietveld refinements were done taken into account the data from high resolution X ray synchrotron. The final result of this refinement indicated that calcium oxalate monohydrated is a new polymorphic phase as compared with ICCD CIF 30782, it was used as a input data in the Rietveld refinement as inicial. As conclusion, it was proposed here a new input data to describe this new polymorphic phase of $\text{Ca}(\text{CO}_2)(\text{H}_2\text{O})$.

Lista de figuras

Figura 2.1 - Imagem esquemática do néfron, mostrando cada uma das suas componentes.....	16
Figura 2.2 – pedra de oxalato de cálcio papilar.....	18
Figura 2.3 – pedra de oxalato de cálcio não papilar.....	19
Figura 3.1 – Um espectro de raios X do tungstênio.....	23
Figura 3.2 – Interferência em nível planar.....	24
Figura 3.3- Montagem de um difratometro usando a geometria de Bragg-Brentano.	24
Figura 3.4 - Esquema de uma fonte de radiação síncrotron.....	26
Figura 3.5 – A luz emitida pela deflexão do feixe.....	27
Figura 3.6 – Rede de Bravais.....	29
Figura 5.1 - Exemplo de cálculo coletado na grande Vitória. Amostra ST576.....	35
Figura 5.2 – Difratograma da amostra ST540.....	38
Figura 5.3 – Mostrando o pico mais intenso e um pequeno pico ao seu lado da amostra ST540.....	38
Figura 6.1 – Célula unitária de Oxalato de cálcio monohidratado.....	44

Lista de tabelas

Tabela 3.1: Classificação das estruturas cristalinas dentro dos sistemas cristalinos.....	28
Tabela 5.1: Parâmetros do Oxalato de Cálcio da Ficha ICCD CIF 30782.....	39
Tabela 6.1 – Dados das pedras coletadas, composição e sexo do paciente.....	42
Tabela 6.2- Valores atômicos da ficha usada durante o refinamento.....	45
Tabela 6.3- Valores atômicos da ficha encontrada durante o refinamento.....	46

Lista de Abreviaturas

AU	Acido Úrico
Bru	Brunina
COM	Oxalato de Cálcio Monohidratado
COD	Oxalato de Cálcio Dihidratado
ESTR	Estruvina
FCa	Fosfato de Cálcio
Lc	L-Cistina
LNLS	Laboratório Nacional de Luz Síncrotron
NI	Não Identificado

Sumário

Capítulo 1 – Introdução.....	11
Referências do capítulo 1.....	14
Capítulo 2 – Cálculo Renal.....	15
2.1 – Introdução.....	15
2.2 – O Rim e a Formação do Cálculo Urinário.....	15
2.2.1 – Morfologia do rim humano.....	15
2.2.2 – O Néfron.....	15
2.2.3 – A urina.....	16
2.3 – Mecanismo de formação dos cálculos.....	17
2.3.1 – Supersaturação e cristalização.....	17
2.3.2 – Agregação, aglomeração e crescimento do cristal.....	17
2.3.3 – Nucleação.....	17
2.4 – Cálculos de oxalato de cálcio.....	18
2.4.1- Cálculos de oxalato de cálcio monohidratados.....	18
2.4.2 Cálculos de oxalato de cálcio monohidratados.....	19
Referências do capítulo 2.....	21
Capítulo 3 - teoria de difração de raios X.....	22
3.1 – Introdução.....	22
3.2 – Produção de Raio X.....	22
3.3 – Difração de raios X e lei de bragg.....	23
3.4 - Avaliação do Padrão Obtido Através de Medidas de Difração de raios X por pó.....	25
3.5 –Radiação Síncrotron.....	25
3.6 – Estrutura cristalinas.....	27
3.6.1 – Redes de Bravais.....	27
Referências do capítulo 3.....	30
Capítulo 4 - Refinamento Rietveld.....	31
4.1 – Introdução.....	31
4.2 – Refinamento – Método de Rietveld.....	31
4.2.1 – Principais parâmetros refinados.....	32
4.2.2 – Método usado no Refinamento.....	32

Referências do capítulo 4.....	33
Capítulo 5– Metodologia.....	34
5.1 – Estudo estatístico.....	34
5.1.1 – Coleta e registro das amostras.....	34
5.1.2 - Condições de medida e métodos de tratamento das amostras.....	34
5.1.3 – Tratamento dos dados - identificação e avaliação das fases.....	36
5.2 - Análise de uma amostra COM usando Rietveld.....	36
5.2.1 - Características das medidas objetivando análise de Rietveld.....	36
5.2.2- Análise Rietveld.....	38
Referências do capítulo 5.....	41
Capítulo 6 - Resultados e Discussões.....	42
6. Resultados.....	42
Referências do capítulo 6.....	48
7. Conclusões.....	49
Anexo.....	50

Capítulo 1 – Introdução

Segundo Lowenstam [1] o processo de biomineralização é o processo pelo qual organismos vivos formam estruturas complexas inorgânicas. Usando a mesma terminologia, podemos dividir o processo de biomineralização induzida e biologicamente controlada. A principal diferença entre esses processos é baseada no grau de especificidade e controle exercido durante a interação entre os constituintes orgânicos e minerais ao longo de todo o processo de precipitação [2].

A litíase renal (também conhecida popularmente como pedra nos rins) é uma das principais doenças que aflige o rim humano, podendo ter um índice de incidência de 12% na população dos países industrializados, com uma recorrência de até 50% [3]. No Brasil, os cálculos no trato urinário acometem entre 5 a 15% da população afetando ambos os sexos, sendo que o sexo masculino tem apresentado maior frequência [4]. Esta doença aflige em sua maioria adultos jovens, mas também ocorre em crianças. Registros indicam que, à medida que a população mundial envelhece, é observado um aumento nos índices nas faixas etárias mais avançadas [3-5].

Mesmo com avanços importantes no procedimento cirúrgico, como a litotripsia extracorpórea por ondas de choque, o conhecimento do desenvolvimento da doença não evoluiu tanto nestes anos [2], pois para o entendimento da doença, é necessário o conhecimento sobre fisiologia renal e bioquímica, além de conhecimento sobre cristalização. Outro motivo é a origem multifatorial da doença, onde ambiente (clima, dieta, entre outros) e fatores genéticos estão misturados.

Toda a urina humana, dependendo do pH, pode ser supersaturada de acordo com as substâncias dissolvidas, como fosfato de cálcio (pH urinário superior a 6) ou ácido úrico (para pH urinário inferior a 5,5) [2]. Além disso, muitas outras substâncias, orgânicas ou não, podem ser encontradas na urina. Nestas circunstâncias, muitas substâncias diferentes podem se cristalizar, dependendo do tempo decorrido até sua micção. A maioria das vezes a urina não forma cristais no trato urinário devido ao

equilíbrio adequado entre os fatores termodinâmicos (como a supersaturação da solução) e cinéticos (como a presença pré-existente de partículas sólidas e sobre o nível de substâncias inibidoras de cristalização) [2]. Portanto um desequilíbrio nestes fatores pode acarretar a formação de cálculos, como o aumento do tempo para a micção que pode ser acarretado por um consumo insuficiente de líquidos que também pode aumentar a supersaturação das substâncias na urina.

O estudo de pedras nos rins se desenvolveu no intuito de compreender a formação de cristais no organismo e identificar as principais substâncias que causam esta doença assim como sua estrutura. Além de ter uma compreensão melhor da sua distribuição, com as estruturas mais encontradas na Grande Vitória.

Em 2000 o aluno de mestrado do programa de Pós-Graduação em Física, Newton Elóis Oliveira de Azevedo, desenvolveu um trabalho de investigação científica, em conjunto com o médico Dr. Jonson da UFES, sobre as simetrias cristalográficas dos cálculos de rins. A investigação ocorreu com o material extraído após um procedimento de Litotripsia Extra Corpórea por ondas de choque.

A pesquisa desenvolvida por Oliveira [6] motivou outros estudantes a continuar a pesquisa. Em 2004, Letícia Kuplich [7] que se desenvolveu uma pesquisa específica sobre o oxalato de cálcio monohidratado. Essa dissertação possibilitou que outra estudante, Fanny Nascimento Costa, descrevesse em sua dissertação sobre o oxalato de cálcio dihidratado em setembro de 2008 [8]. Junto com este trabalho, a então, mestra Letícia Kuplich continua o trabalho de investigação do oxalato de cálcio monohidratado e apresenta uma tese de doutorado em dezembro de 2008 [9].

Temos a ampliação dos trabalhos de investigação cristalográfica, pela pesquisa da mestre Janaína Bastos Depianti que trata da biocristalografia de pedras de vesícula apresentada em maio de 2009 [10].

O presente trabalho, que será apresentado nos próximos capítulos, é uma consequência dessas pesquisas. No entanto, esta dissertação traz novidades quanto a cristalografia do material investigado.

Neste trabalho, utilizamos a técnica de difração de raios X de pó para fazer uma análise das fases de 56 amostras coletadas na região da Grande Vitória. A principal vantagem do uso do método da difração de raios X de pó é a possibilidade da identificação das fases cristalinhas das amostras e quando associadas ao método de Rietveld pode fornecer informações do cristal estudado.

Nas medidas de difração de raios X de pó, a amostra é exposta a um feixe de raio X sendo refletido e registrado na forma de um gráfico formando um padrão de difração. Cada composto tem seu próprio padrão de difração, sendo usados padrões já conhecidos para determinar as fases das amostras medidas. Este método permite determinar até mesmo pequenas quantidades de amostra e sem perder a amostra durante a medida, mas mesmo que o método seja eficiente, a cristalografia por raios X utiliza aparelhos caros e requer conhecimento técnico especializado, o que torna difícil o uso da prática clínica, especialmente por não poder ser usado *in vivo*.

Este trabalho foi dividido em duas partes:

- A primeira é a análise estatística das pedras doadas.
- A segunda é o estudo do oxalato de cálcio monohidratado (a pedra com maior abrangência no estudo) e análise estrutural usando refinamento Rietveld.

Descreveremos a seguir como esta dissertação foi dividida para melhor organização e entendimento.

No capítulo 2, abordamos a formação dos cálculos renais.

O capítulo 3 traz uma breve descrição da teoria de difração de raios X.

No capítulo 4 relata-se o procedimento utilizado no refinamento pelo método de Rietveld e suas implicações.

O capítulo 5 traz a metodologia experimental adotada para o desenvolvimento da pesquisa, aparelhagem utilizada, processo de preparação das amostras, avaliação e identificação das fases presentes nas amostras.

No capítulo 6, encontram-se os resultados e discussões.

No capítulo 7 as conclusões do trabalho.

Referências

- [1] LOWENSTAM, H.A.; WEINER, S. **On Biomineralization**, Oxford University Press, New York, 1989.
- [2] KÖNIGSBERGER, Erich; KÖNIGSBERGER, LanChi. **Medical Aspects of Solubility**. Inglaterra: John Wiley & Sons Ltd, 2006.
- [3] **Jornal brasileiro de nefrologia** . Disponível em: <<http://www.jbn.org.br/default.asp>>. Acessado em 13 dez. 2010.
- [4] PERES, Luiz Alberto Batista. Investigação Metabólica de 578 Pacientes com Litíase Urinária no Oeste do Paraná. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, São Paulo, vol.27, n. 4, p. 196-200, dezembro de 2005.
- [5] HEILBERG, Ita Pfeferman. Litíase Renal. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, São Paulo, vol.29, n. 4, 2007.
- [6] AZEVEDO, Newton Eloi Oliveira de. **Estudo sobre Pedras de Rins Através da Técnica de Difração de Raios-X de Pó**. 2002. Dissertação (Mestrado em Física) – Programa de Pós-Graduação em Física, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória.
- [7] KUPLICH, Letícia. **Estudo sobre o $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ presente em pedras de rins**. 2004. Dissertação (Mestrado em Física) – Programa de Pós-Graduação em Física, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória.
- [8] COSTA, Fanny Nascimento. **Estudo sobre o oxalato de cálcio dihidratado encontrado em pedras de rins**. 2008. Dissertação (Mestrado em Física) – Programa de Pós-Graduação em Física, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória.
- [9] KUPLICH, Letícia. **Biocristalografia do oxalato de calcio monohidratado presente em calculos renais**. 2008. Tese (Doutorado em Física) – Programa de Pós-Graduação em Física, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória.
- [10] DEPIANTI, Janaina Bastos. **Biocristalografia de Pedras de Vesícula**. 2009. Dissertação (Mestrado em Física) – Programa de Pós-Graduação em Física, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória.

Capítulo 2 - Cálculo Renal

2.1 – Introdução

A maioria das pessoas é familiarizada com as importantes funções dos rins para livrar o corpo dos resíduos ingeridos e dos produtos metabólicos [1], além de controlar o volume e a composição dos fluidos corporais. Durante o processo de filtração, o filtrado vai se tornando mais concentrado. Este aumento de concentração produz conseqüentemente uma solução saturada com a formação de pequenos cristais. Normalmente estes cristais são eliminados pela urina, mas pode acontecer, devido a uma falha no trato urinário ou a uma grande formação dos cristais, a agregação e formação de uma pedra no trato urinário. A esta formação de cálculos no trato urinário damos o nome de urolitíase.

2.2 – O Rim e a Formação do Cálculo Urinário.

Para entender melhor a formação de cálculos urinários é necessário realizar um estudo sobre cada um dos processos de formação do cálculo urinário (a saturação, nucleação, agregação e a epitaxia) [2], mas antes de discutirmos as teorias de formação do cálculo urinário vamos fazer uma breve descrição do rim humano.

2.2.1 – Morfologia do rim humano.

O rim humano pode ser dividido em duas partes, o cortex, que é a parte mais externa do rim, e a medula, que se encontra mais internamente. O rim é composto por aproximadamente 1 milhão de unidades funcionais completas, o néfron. Cada néfron mede de 20 a 40 mm, se estendendo do cortex até a medula e é capaz por si só de filtrar o sangue e produzir urina [1].

2.2.2 – O Néfron

O néfron representa a menor parte funcional do rim, sendo capaz de produzir urina independente dos demais, com isso, podemos compreender a função renal estudando a função de um único néfron. A principal função do néfron é filtrar o plasma sanguíneo e remover as substâncias que devem ser eliminadas do organismo.

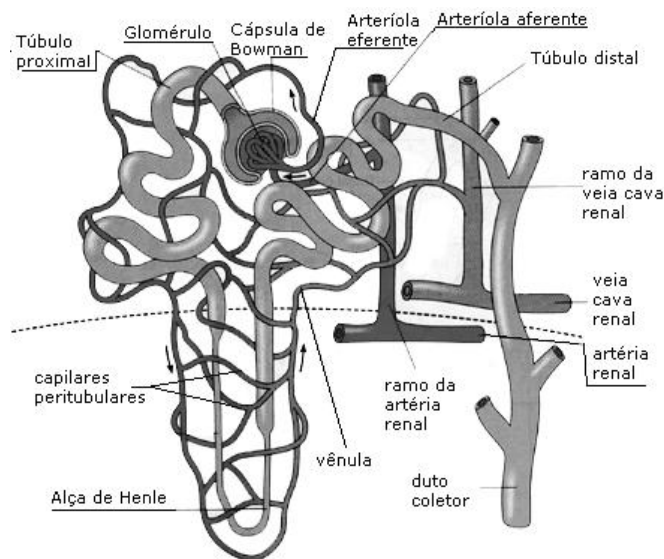


Figura 2.1-Imagem esquemática do néfron, mostrando cada uma das suas componentes [1].

Como já mencionado, cada rim humano tem cerca de 1 milhão de néfrons, sendo cada um deles capaz de produzir urina, mas os rins não podem regenerar os néfrons. Por conta disso, com o tempo há uma diminuição gradual do número de néfrons, mas sem afetar a vida, pois as mudanças adaptativas dos néfrons remanecentes permitem a excreção adequada dos produtos residuais. Cada néfron é constituído de um tufo de capilares glomerulares denominados glomérulo e um túbulo em que o líquido filtrado é convertido em urina [1].

2.2.3 – A urina

A urina humana é uma solução saturada onde podem ser encontrados íons, compostos orgânicos, agregados de proteínas e restos celulares. O pH da Urina pode variar de 4,5 a 7,5 dependendo da composição da urina.

Normalmente a urina está em equilíbrio entre os fatores que favorecem a cristalização e os inibidores. Quando os fatores inibidores param de atuar, ou seja, os fatores físicos e químicos entram em ação (supersaturação da solução, presença pré-existente de partículas sólidas, tempo de filtração), a urina transforma-se de saturada em supersaturada, levando a formação de cristais [3-4].

2.3 – Mecanismo de formação dos cálculos.

2.3.1 – Supersaturação e cristalização.

Como discutido anteriormente, a supersaturação é um dos fatores mais importantes para que se tenha a cristalização. Os humanos excretam diariamente uma grande quantidade de cristais, o que mostra que há um fator de supersaturação na formação da urina [3], mas não indica a formação da litíase. Para a formação de pedras, existem outros fatores, como tempo de permanência. O uso de medicamentos também pode influenciar o aparecimento de cristais na urina assim como o tempo entre a coleta e o exame.

2.3.2 – Agregação, aglomeração e crescimento do cristal.

Agregação é o termo usado para descrever o processo em que há ligação entre os cristais, formando aglomerados. Esta deposição é influenciada pela saturação e pelas interações iônicas. Os compostos orgânicos também podem se aderir ao núcleo e facilitar a agregação de cristais [2].

2.3.3 – Nucleação.

A formação de uma urina saturada ou supersaturada propicia a nucleação de cristais, podendo ser homogênea ou heterogênea.

A homogênea ocorre quando o cristal formado serve de meio para a deposição de outros cristais semelhantes, enquanto a heterogênea resulta na deposição de

cristais sobre um meio constituído por macromoléculas, impurezas ou outro cristal quimicamente diferente.

Uma vez ocorrida a nucleação, a deposição de outros cristais é facilitada e não requer níveis de saturação tão elevados quanto no início do processo. O núcleo poderá crescer, agregar outros cristais ou matriz orgânica, originando o cálculo propriamente dito, ou ser eliminado na urina (cristalúria) [2].

2.4 – Cálculos de oxalato de cálcio.

Em muitos estudos [5-7], a fase mais encontrado nos cálculos dos doadores foi a de oxalato de cálcio, podendo ser encontrado puro, misturados a uma matriz orgânica ou a outras fase como ácido úrico. Várias teorias foram criadas para explicar a formação dos cálculos renais [3-4], mas nenhuma foi capaz de responder completamente, pois a formação dos cálculos se deve a múltiplos fatores, como a hiper calciúria além de fatores promotores e inibidores para a formação (como a supersaturação da solução, a presença pré-existente de partículas sólidas e sobre o nível de substâncias inibidoras de cristalização).

Em países industrializados temos aproximadamente 70% dos cálculos urinários formados por oxalato de cálcio. Na nossa pesquisa [5], sobre a grande Vitória, cerca de 92% das pedras analisadas apresentavam pelo menos uma fase de oxalato de cálcio.

2.4.1- Cálculos de oxalato de cálcio monohidratados.

Os cálculos renais de oxalato de cálcio monohidratados podem ser divididos em dois subgrupos para podermos analisar sua etiologica, os papilares e os não-papilares [3].

Os oxalatos de cálcio papilares são geralmente semiesféricos com 2 a 3 mm.

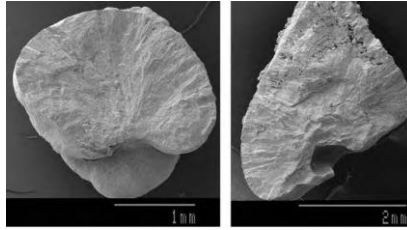


Figura 2.2 – pedra de oxalato de cálcio papilar [3].

Os cálculos de oxalato não papilar, normalmente apresentam aparência esférica e apresentam vários lóbulos, podendo ter diâmetros maiores do que 1 cm.

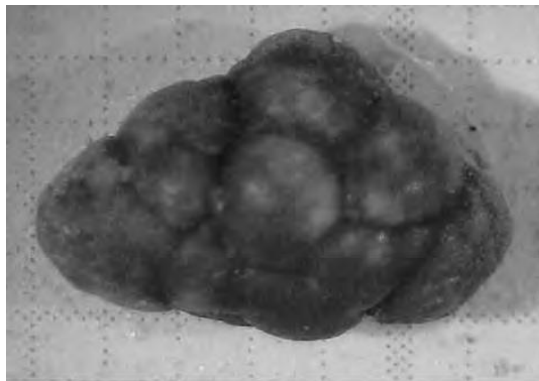


Figura 2.3 – pedra de oxalato de cálcio não papilar [3].

O cálculo renal de oxalato de cálcio monohidratado papilar, como o nome já diz, começa a ser formar nas papilas renais, mais especificamente nas partes onde a camada anti-aderente de glicosaminoglicanos que as protege é reduzida ou destruída. Como um problema de uma disfunção celular [6], os detritos orgânicos podem agir como nucleantes dos cristais de oxalato de cálcio, que podem crescer e formar um núcleo de oxalato de cálcio. É muito importante falar sobre os inibidores da cristalização, que impedem o aparecimento dos núcleos para a formação ou crescimento do cálculo de oxalato de cálcio. Se for constatado pouca eliminação destes inibidores na urina, há um risco de desenvolvimento deste tipo de cálculo [3].

Os cálculos renais não papilares de oxalato de cálcio monohidratado apresentam uma estrutura diferente dos papilares. Eles normalmente apresentam um dos nucleantes heterogêneos em sua formação, sendo que sobre este núcleo o oxalato cresce em colunas onde constituirá assim o cálculo [3].

2.4.2 Cálculos de oxalato de cálcio dihidratados.

O cálculo de oxalato de cálcio dihidratado aparece confinado em cavidade de baixa eficácia urodinâmica [3]. Os cristais de oxalato de cálcio dihidratado apresentam morfologia bipiramidal e apresenta um crescimento estrutural desordenado [3]. Essa é a razão pela qual estes cálculos apresentam estruturais falhas em que os cristais de oxalato de cálcio dihidratado são sobrepostas com fosfatos de cálcio podendo ser detectados entre eles [3]. Os cristais de oxalato de cálcio dihidratado, uma vez formados, podem induzir o crescimento de outros cristais, em suas faces e arestas, favorecendo a formação de agregados cristalinos (um fenômeno conhecido como agregação primária). A matéria orgânica (como resíduos celulares) também pode atuar como nucleantes heterogênea de cristais de oxalato de cálcio dihidratado [7].

Referências.

- [1] Guyton, Arthur C.; Hall, John E. **Medical Physiology**. 11ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2006.
- [2] **Wikipédia, a enciclopédia livre - Cálculo renal**. Disponível em: <http://pt.wikipedia.org/wiki/C%C3%A1lculo_renal>. Acessado em 10 out. 2010.
- [3] KÖNIGSBERGER, Erich; KÖNIGSBERGER, LanChi. **Medical Aspects of Solubility**. Inglaterra: John Wiley & Sons Ltd, 2006.
- [4] SOUZA, M. H. L.; ELIAS, D. O. Fisiologia Renal. In: . **Fundamentos da circulação extracorpórea**. 2.ed. Rio de Janeiro: Alfa Rio, 2006.
- [5] KUPLICH, Letícia. **Biocristalografia do oxalato de calcio monohidratado presente em calculos renais**. 2008. Tese (Doutorado em Física) – Programa de Pós-Graduação em Física, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória.
- [6] AIHARA, K.; BYER, K.J.; KHAN, S.R. Calcium phosphate-induced renal epithelial injure and stone formation: Involvement of reactive oxygen species. **Kidney International**., Vol. 64 , p. 1283–1291 de 2003.
- [7] KHAN, S.R. Calcium phosphate/calcium oxalato crystal association in urinary stones: implications for heterogeneous nucleation of calcium oxalato, **J. Urol.**, vol. 157, p. 376-382 de 1997.

Capítulo 3 - Técnica de Difração de raios X

3.1 – Introdução:

A técnica experimental que tem se revelado de maior importância para o estudo de estruturas cristalinas, tem sido a difração de raios X [1]. Comparada a outras formas de análise, com relação ao cálculo urinário, o método de difração é um dos melhores, por não comprometer a amostra ou acarretar na perda da mesma, como ocorre com a análise química. A difração além de revelar a estrutura cristalina do material. A única desvantagem são os custos dos equipamentos, o que a tornava pouco prático no uso hospitalar restringindo seu uso na área acadêmica. No entanto, uma nova geração de equipamentos de baixo custo aponta essa técnica como viável em hospitais públicos e privados.

3.2 – Produção de Raios X.

Os raios X podem ser produzidos em laboratório pela colisão de um feixe de elétrons contra um alvo metálico. Num tubo de raios X os elétrons são liberados por um catodo aquecido e acelerados através de uma voltagem entre o catodo e o anodo, onde este colide contra o anodo. O espectro produzido é constituído por um espectro discreto sobreposto por um contínuo, como pode ser visto na figura 3.1. O contínuo é devido ao processo de *bremstrahlung* que ocorre quando os elétrons do feixe são desacelerados no espalhamento produzido pelos elétrons no anodo. A forma do espectro discreto é uma característica dos átomos que compõem o anodo [2].

O comprimento de onda de corte λ_m do espectro contínuo independe da substância usada como alvo, mas é função da energia dos elétrons [3], então:

$$\lambda_m = \frac{hc}{eV} \quad (3.1)$$

Onde h é a constante de Planck, c é a velocidade da luz e V é a energia dos elétrons incidentes.

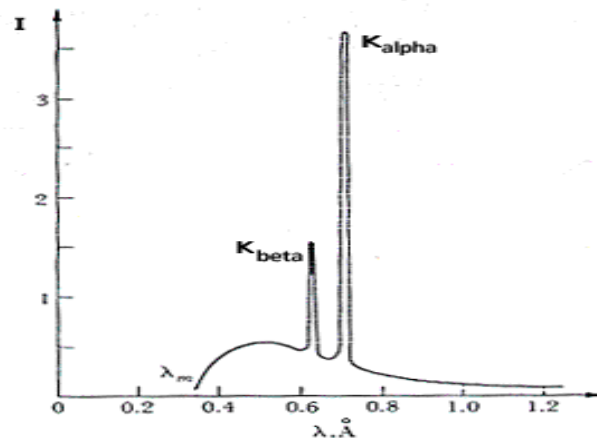


Figura 3.1 – Um espectro de raios X do tungstênio [3].

O espectro discreto é produzido devido à interação entre os elétrons do átomo do alvo metálico com as partículas incidentes, que neste caso são os elétrons do feixe. Esta interação faz com que o elétron do átomo seja removido da sua posição atômica com isso aparece uma vacância e conseqüentemente fazendo com que o átomo fique ionizado. Quando o elétron do átomo da camada L é transferido para a camada K para ocupar a vacância, ocorre um efeito de produção de fóton com energia $(\phi_k - \phi_l)$, é chamado de fótons de raios X K_α . Com isso podemos ver o porque o espectro discreto depende do material do alvo e é sempre o mesmo para um dado material.

3.3 – Difração de raios X e lei de Bragg.

Para que as ondas refletidas interfiram construtivamente é necessário que a diferença de caminho entre os raios, incidentes e refletidos, seja um múltiplo inteiro do comprimento de onda da radiação monocromática incidente, satisfazendo a condição de Bragg:

(3.2)

Onde n corresponde a um número inteiro (ordem de difração) e d corresponde à distância interplanar da estrutura cristalina e θ é o ângulo de incidência do raio X, figura 3.2.

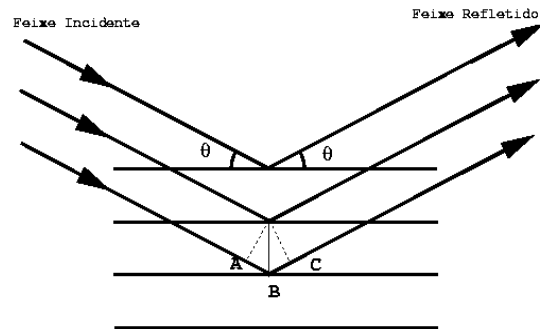


Figura 3.2 – Interferência em nível planar[3].

Lembrando que o desvio do ângulo entre o feixe incidente e o refletido é de 2θ .

No difratômetro, as medições são feitas detectando os feixes difratados usando a geometria de Bragg-Brentano.

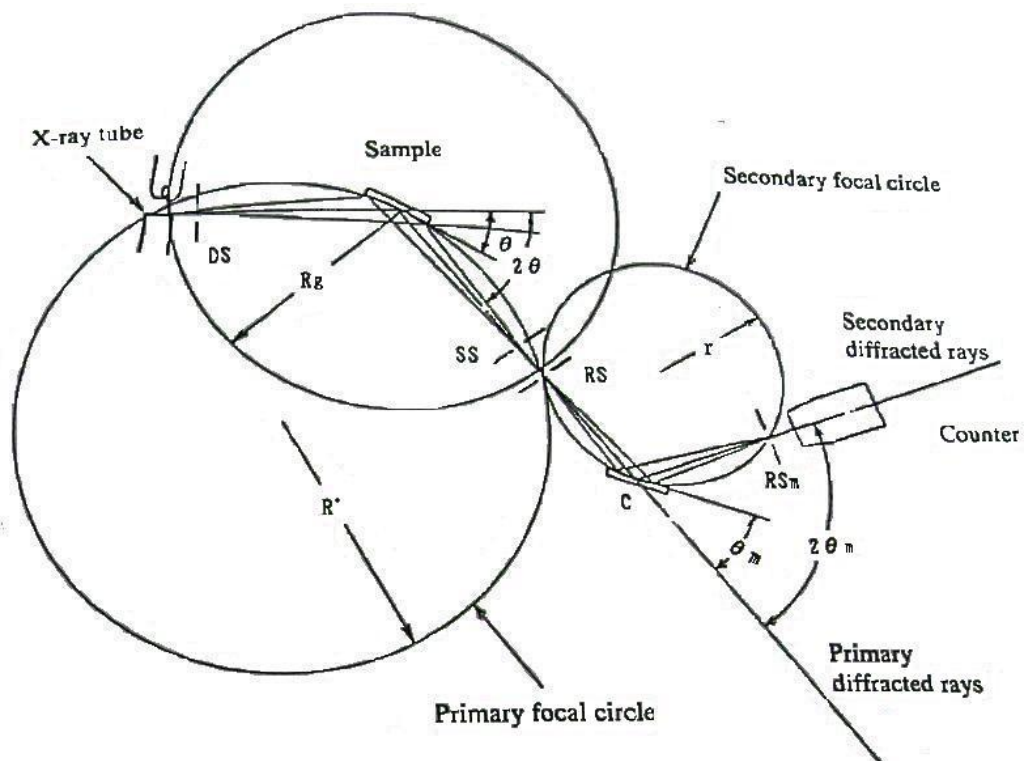


Figura 3.3- Montagem do difratômetro com a geometria de Bragg-Brentano

O círculo central é chamado de círculo primário focal. Raios difratados da fenda receptora (RS) dispostas em círculo principal foco são monocromatizados por cristal de grafite, passou pela fenda de recepção para o monocromador (RS_m), e entrar um detector. O RS, cristal de grafite, e RS_m estão dispostos em um círculo que satisfaça as condições para o método de focalização, chamada de círculo secundário focal.

Neste monocromador fixo, o raio de curvatura do cristal de grafite é de 225mm. Este é também o raio do círculo secundário focal. O ângulo de difração (θ_m) do cristal é determinada pelo comprimento de onda alvo (tipo de raios X característicos). As posições do cristal de grafite e RS_m pode ser determinada pelo raio de curvatura e comprimento de onda de destino [1,4].

3.4 - Avaliações do Padrão Obtido Através de Medidas de Difração de raios X de pó

O método de difração de raios X tem como principal objetivo a identificação de compostos cristalinos. Cada composto tem seu próprio difratograma, que é característico de cada fase cristalina, como se fosse a impressão digital.

Para identificar as fases cristalinas, é feito um banco de dados, com várias ficha contendo as figuras de difração, estas fichas são conhecidas com fichas PDF, que além de conterem o difratograma de uma dada fase para um determinado comprimento de onda, também contem informações básicas sobre a estrutura cristalina do material. Além da difração de raios X servir para identificar uma fase, ela pode ser usada também para determinar certos parâmetros cristalinos do material estudado, como os planos de difração assim como suas distâncias interplanares, entre outras. Isto a torna uma das maiores ferramenta para a identificação de fases de uma amostra. Porém, quanto mais fases uma amostra tiver, mais difícil vai ser identificar as fases nela contidos. Na busca, procuramos inicialmente aquela que tem os padrões mais característico. Uma vez encontrado subtraímos da difratograma e analisamos a difração residual.

3.5 – Radiação Síncrotron.

Em general, o processo de geração de radiação síncrotron é resultado da interação do campo magnético com elétrons a velocidades relativísticas. A radiação síncrotron é convenientemente produzida no anel de armazenamento (como mostrado na figura 3.4).

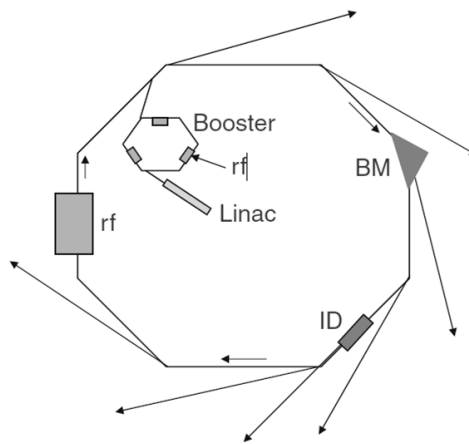


Figura 3.4 - Esquema de uma fonte de radiação síncrotron [6].

Após a injeção, os elétrons relativísticos circulam no anel (em seu interior é feito vácuo) e emitem radiação eletromagnética, quando sua trajetória é curvada por um campo magnético [5,6].

A luz de uma fonte síncrotron é produzida pela deflexão de um feixe de cargas elétricas aceleradas com velocidades relativísticas por causa de campos magnéticos ao percorrer uma órbita circular fechada [7]. A luz Síncrotron é emitida tangencial à trajetória das partículas e com quase toda intensidade colimada no plano da órbita. A luz emitida tem a forma de um leque (Figura 3.5) e abrange uma ampla faixa do espectro eletromagnético (raio X, luz ultravioleta, infravermelho e luz visível). Uma parte dessa luz é levada para fora do anel onde é aproveitada nas diversas estações experimentais distribuídas dentro de um laboratório síncrotron [7].

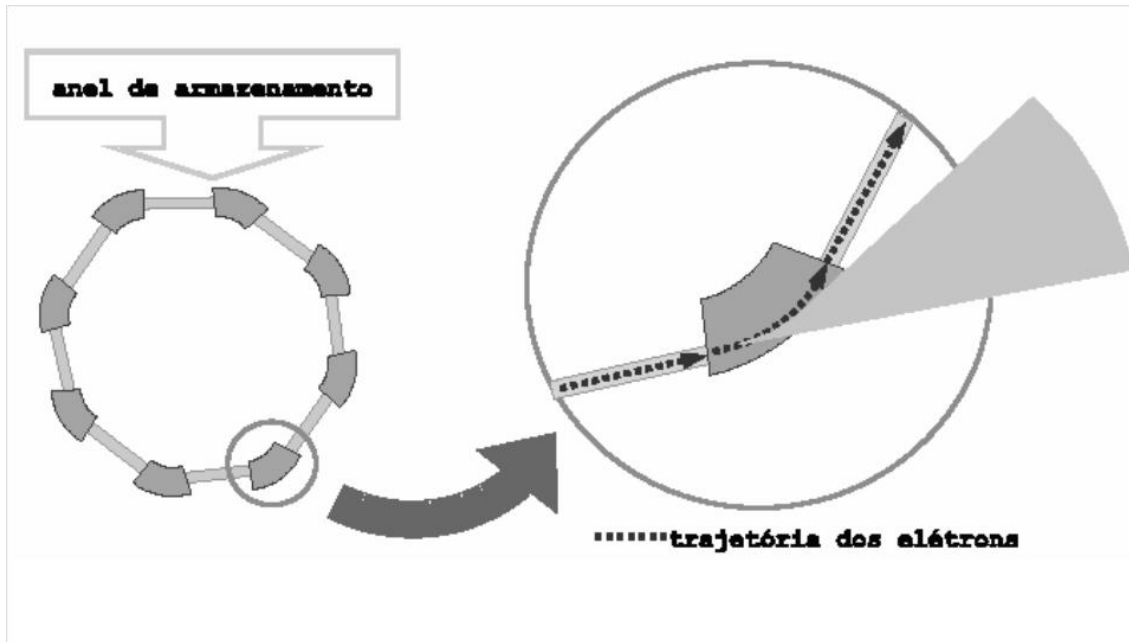


Figura 3.5 – A luz emitida pela deflexão do feixe [7].

As principais características da luz síncrotron são: a alta intensidade, o amplo espectro de energia e a polarização da luz emitida. A grande maioria das fontes de radiação síncrotron utiliza feixe de elétrons com energia cinética da ordem de GeV.

3.6 – Estruturas cristalinas.

Começamos esta seção descrevendo o que é um cristal. Um cristal é uma distribuição periódica de átomos, que se desenvolve com blocos de átomos idênticos adicionados continuamente formando uma estrutura. Uma estrutura cristalina é uma rede de pontos regularmente espaçados com uma distribuição regular [8].

O menor conjunto de átomos que pode representar todo o cristal é chamado de célula unitária.

3.6.1 – Redes de Bravais.

Um cientista francês, Bravais, determinou que teoricamente podemos ter em três dimensões 14 estruturas de redes, divididos em 7 grupos.

Tabela 3.1: Classificação das estruturas cristalinas dentro dos sistemas cristalinos.

Sistemas Cristalino	Parâmetro de rede e ângulo entre os eixos	Estrutura de redes.
Cúbica	Três eixos iguais em ângulo reto. $a=b=c, \alpha=\beta=\gamma=90^\circ$	Cúbica simples Cúbica de corpo centrado Cúbica de face centrada
Tetragonal	Três eixos em ângulo reto, dois iguais. $a=b \neq c, \alpha=\beta=\gamma=90^\circ$	Tetragonal simples Tetragonal de corpo centrado
Ortorrômbica	Três eixos desiguais em ângulo reto. $a \neq b \neq c, \alpha=\beta=\gamma=90^\circ$	Ortorrômico simples Ortorrômico de corpo centrado Ortorrômico de base centrada Ortorrômico de face centrada
Romboédrica	Três eixos iguais, ângulos iguais. $a=b=c, \alpha=\beta=\gamma \neq 90^\circ$	Romboédrico simples
Hexagonal	Dois eixos iguais, dois ângulos iguais a 90° , terceiro a 120° . $a=b \neq c, \alpha=\beta=90^\circ \gamma=120^\circ$	Hexagonal simples
Monoclínica	Três eixos desiguais, um ângulo diferente. $a \neq b \neq c, \alpha=\gamma=90^\circ, \beta \neq 90^\circ$	Monoclínico simples Monoclínico de base centrada
Triclínica	Três eixos desiguais, ângulos desiguais. $a \neq b \neq c, \alpha \neq \beta \neq \gamma \neq 90^\circ$	Triclínico simples

Podemos visualizar as estruturas descritas através da figura abaixo:

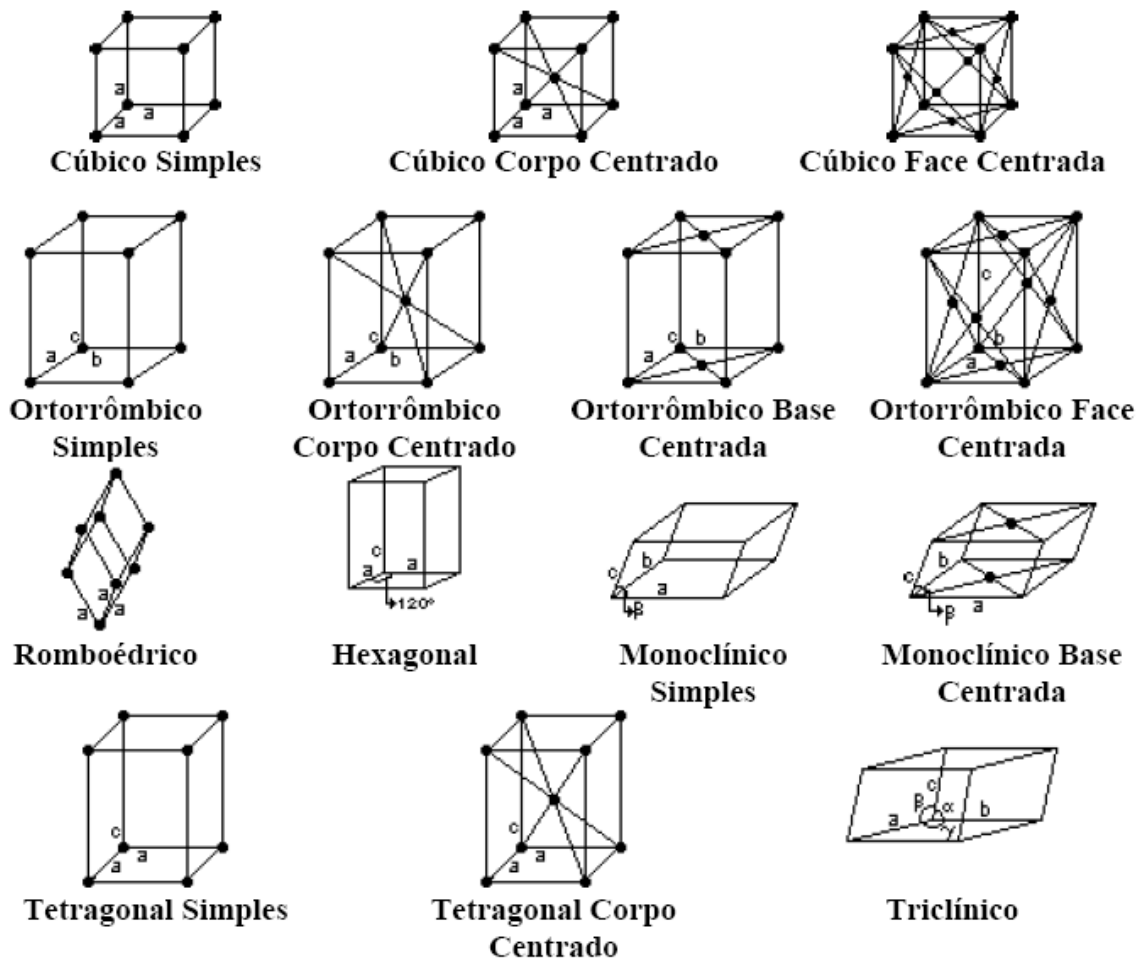


Figura 3.6 – Rede de Bravais.

Podemos descrever a rede de Bravais como uma rede de infinitos pontos discretos, com um arranjo e orientação idênticos, independente do ponto espacial de onde é visto, cuja distribuição tridimensional tem vetores de posição R na forma:

$$(3.3)$$

Onde, \mathbf{a}_1 , \mathbf{a}_2 e \mathbf{a}_3 são quaisquer vetores, não todos no mesmo plano, e n_1 , n_2 e n_3 são três números inteiros quaisquer. Os vetores \mathbf{a}_i , onde $i = 1, 2$ e 3 , são denominados vetores primitivos e a combinação linear é dita geradora ou varredora da rede cristalina [1, 9].

Referências:

- [1] HAMMOND, CHRISTOPHER. **The Basics of Crystallography and Diffraction**. 3. ed. Oxford University Press, New York, 2009.
- [2] EISBERG, R.; RESNICK, R. **Física Quântica**. Tradução de Paulo Costa Ribeiro, Enio Frota da Silva de Marta Feijó Barroso. Rio de Janeiro: Elsevier, 1979.
- [3] TIPLER, P. A.; LLEWELLYN, R. A. **Física Moderna**. 3. Ed. LTC, Rio de Janeiro, 2001.
- [4] CULLITY, B. D. **Elements of X-Ray diffraction**. 2. ed, Massachusetts: Addison-Wesley, 1978.
- [5] BEAUREPAIRE, E.; BULOU, H.; SCHEURER, F.; KAPPLER, J.P. **Magnetism and Sychrotron Radiation**. Springer, New York, 2010.
- [6] EZQUERRA, T.A.; GARCÍA-GUTIÉRREZ, MARICRUZ; NOGALES, A.; GÓMEZ, M. **Applications of Synchrotron Light to Scattering and Diffraction in Materials and Life Sciences**. Springer, New York, 2009.
- [7] DEPIANTI, Janaina Bastos. **Biocristalografia de Pedras de Vesícula**. 2009. Dissertação (Mestrado em Física) – Programa de Pós-Graduação em Física, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória.
- [8] KITTEL, CHARLES. **Introduction to Solid State Physics**. 8. Ed., John Wiley & Sons, Estados Unidos da América, 2005.
- [9] SZWACKI, NEVIL GONZALES; SZWACKA, TERESA. **Basic Elements of Crystallography**. Pan Stanford Publishing, 2010.

Capítulo 4 - Refinamento de Rietveld

4.1 – Introdução.

Com o objetivo de obter informações mais precisas sobre a estrutura de uma amostra de oxalato de cálcio monohidratado foi escolhido o cálculo considerado mais puro de oxalato de cálcio monohidratado, e realizou-se medidas de alta definição no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron. Os dados oriundos dessas medidas foram refinados pelo método de Rietveld usando um pacote de programa GSAS-EXPGUI [1, 2].

4.2 – Refinamento – Metodo de Rietveld.

O método de Rietveld é um método complexo de minimização de resíduos oriundos da diferença entre o difratograma medido e o difratograma calculado. A idéia principal do método de Rietveld é considerar o padrão de difração de pó usando toda uma variedade de parâmetros refináveis, de tal maneira que um difratograma teórico (calculado pelo programa a partir dos parâmetros de entrada), se aproxime o máximo possível do difratograma experimental (medido em laboratório) [3].

No método de Rietveld de mínimos quadrados, o refinamento é realizado até o melhor ajuste entre o padrão de difração medida e o padrão simulado. O método de refinamento de estrutura é feita ponto a ponto e as diferenças encontradas em cada ponto são ajustadas pelo método dos mínimos quadrados. Para utilizar este método é necessário conhecer com antecedência as fases que compoem a mistura e possuir dados de difratômetros de boa qualidade. A quantidade minimizada no refinamento é a função residual S_y dada por:

$$(4.1)$$

onde:

$W_i = 1/y_i$ = intensidade observada no i-ésimo passo

Y_{ci} = intensidade calculada no i-ésimo passo

y_i = intensidade (valor bruto) observado na fase i

Um espectro de difração de pó de um material cristalino pode ser construído através de uma coleção de picos de reflexões individuais, cada qual com uma altura, uma posição, uma largura, bordas e uma área integrada, que é proporcional a intensidade de Bragg, I_K , em que K representa os índices de Miller, h, k e l de um determinado plano cristalino de uma dada fase. I_K é proporcional ao quadrado do valor absoluto do fator de estrutura, $|FK|^2$, da referida fase. Muitas reflexões de Bragg contribuem para a intensidade Y_i , que é observada em qualquer ponto arbitrário i no padrão. As intensidades calculadas Y_{ic} são determinadas pelos valores de $|FK|^2$ calculados por um modelo estrutural e constituem a soma das contribuições calculadas das vizinhanças das reflexões de Bragg e de sua linha de base [4].

4.2.1 – Principais parâmetros refinados.

Durante o refinamento pelo método de Rietveld os principais parâmetros refinados, usando como referência o que foi feito em trabalhos anteriores do grupo [5, 6] e o estudo de outros trabalhos [7, 8].

Fatores estruturais: posição atômica, parâmetro de vibração térmica (isotrópico e anisotrópico) e a ocupação.

Fatores não estruturais: fator de escala, linha de base, orientação preferencial, perfil de pico, deslocamento do ponto focal óptico do difratômetro.

4.2.2 – Método usado no Refinamento.

Antes de realizar o refinamento, procuramos utilizar um difratograma de qualidade. No primeiro ciclo, foram ajustado os coeficientes da linha de base e o fator de escala. Nos demais ciclos foram sendo liberados os demais parâmetros. Depois do primeiro ciclo, foi observado o deslocamento dos picos calculados, ajustando inicialmente os fatores não estruturais, liberando de acordo com o que foi observado nos ciclos anteriores, depois os parâmetros estruturais eram liberados, observado o valor numérico do resíduo do mínimo quadrado e o gráfico para identificação dos problemas.

Referências

- [1] LARSON, A. C.; VON DREELE, R. B. “**General Structure Analysis System**” (**GSAS**). Los Alamos National Laboratory Report, LAUR. 2004
- [2] TOBY, B. H. **EXPGUI**. Usa interface gráfica do GSAS. J. Appl. Cryst. 2001
- [3] WILL, Georg. **Powder Diffraction: the rietveld method and the two-stage method** , Springer, New York, 2006.
- [4] YOUNG, R. A. **The Rietveld Method** , Oxford University Press, New York, 1993.
- [5] KUPLICH, Letícia. **Biocristalografia do oxalato de calcio monohidratado presente em calculos renais**. 2008. Tese (Doutorado em Física) – Programa de Pós-Graduação em Física, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória.
- [6] ORLANDO, M.T.D.; KUPLICH, L.; SOUZA, D.O.; BELICH, H.; DEPIANTI, J.B.; ORLANDO, C.G.P.; MEDEIROS, E.F.; CRUZ, P.C.M.; MARTINEZ, L.G.; CORRÊA H.P.S.; ORTIZ R. Study of calcium oxalate monohydrate of kidney stones by X-ray diffraction. **Powder Diffraction Suppl.** 23, p 59-64, Junho 2008.
- [7] FANCIO, Elizabeth. **Apliação do método de rietveld para análise quantitativa de fases dos polimorfos da zircônia por difração de raios X**. 1999. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear-Aplicações) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.
- [8] GHOSH, SOUMEM; BASU, SHARMILA; CHAKRABORTY, SANTU; MUKHERJEE, ALOK K. Structural and microstructural characterization of human kidney stones from eastern Indian using IR spectroscopy, scanning electron microscopy, thermal study and X-ray Rietveld analysis. **Journal of Applied Crystallography.** 42, p 629-635, Maio 2009.

Capítulo 5 – Metodologia

5.1 – Estudo estatístico.

5.1.1 – Coleta e registro das amostras.

Este estudo foi feito com pedras de rins doadas por pacientes em toda a região da Grande Vitória no Estado do Espírito Santo. O registro, ao recebermos uma nova pedra, foi feito através de uma ficha (em anexo) que descreve os dados dos doadores. Com essa ficha construímos um histórico objetivando registrar um perfil, baseado no sexo, idade, se já teve caso de pedra nos rins ou na família e se existiu outra doença, entre outras coisas. Nosso intento sempre foi de identificar eventos correlacionados.

Foi feito um registro fotográfico dos cálculos, objetivando construir uma classificação morfológica, para que depois de preparadas as amostras, elas possam ser comparadas na forma, cor e outras características. Essa etapa metodológica visa que, a posteriori, possamos, com os dados da análise e caracterização das fases, relacionar as substâncias que constitui a amostra com as características da pedra. A forma de uma pedra, de acordo com a literatura [1,2], pode prover indícios de onde a pedra se originou e como cresceu no rim.

5.1.2 - Condições de medida e métodos de tratamento das amostras

Faz-se aqui uma descrição de como as amostras das pedras de rim, foram preparadas para as medidas de raios X. Inicialmente o cálculo é catalogado tendo características de cor e forma registradas, e em seguida fotografamos para ter um registro visual.



Figura 5.1- Exemplo de calculo coletado na grande Vitória. Amostra ST576. A escala está em cm.

Uma vez fotografadas, as pedras eram pulverizadas em um pilão de ágata, e em seguida, eram peneiradas através de uma peneira de 53 μ m de malha. Sob a forma de pó, a amostra era então levada para ser analisada no difratômetro de raios X.

As medidas iniciais foram realizadas em um difratômetro marca Rigaku modelo Ultima IV, usando um tubo cuja radiação de cobre com K_{α} médio que possui comprimento de onda de 1,541 Å, sendo que a varredura angular (2θ) das medidas foi de 4° a 120° com passo de 0,02°.

As medidas de difração em alta resolução, utilizando luz síncrotron, foram realizadas no Laboratorio Nacional de Luz Síncrotron – LNLS, através das propostas de pesquisa:

- D10B-XPD–7545 – “Caracterização de amostras padrão de referência para difratometria”.
- D10B-XPD–8102 – “Caracterização de amostras padrão de referência para difratometria”.
- D10B-XPD–8757 – “Caracterização de amostras padrão de referência para difratometria”.

A estação XPD do LNLS apresenta as seguintes características [3]:

- Fonte: Imã defletor D10, fluxo na posição do detector: $\sim 1 \times 10^{10}$ ftons/s.mrad @ 8 keV.
- Monocromador: Monocromador de duplo cristal de Si (111) com saída constante; faixa de energia: 5-14 keV.

- Sistema para focalização baseado em: espelhos de luz branca permitem focalização vertical e colimação do feixe de raios X. Focalização sagital (10mrad) por curvatura elástica do segundo cristal.
- Goniometria: Difratometro de seis círculos (Huber) com analisador theta dois theta e analisador de polarização.

No modo de alta resolução foi usado um cristal analisador de Ge de alta perfeição cristalina com orientação (111), apropriado para solução e/ou refinamento de estruturas cristalinas onde é desejada mínima sobreposição entre picos de Bragg.

5.1.3 – Tratamento dos dados - identificação e avaliação das fases.

Com os dados da difração foi possível aplicar o programa *Fityk* [4] para determinar os picos. Para tanto a função de ajuste de perfil dos picos foi a pseudo-Voigt, que é combinação de uma função lorentziana com uma gaussiana. A função pseudo-Voigt é definida por:

$$(5.1)$$

onde 2θ é o ângulo, $I(2\theta)$ é a intensidade no ângulo 2θ , $L(2\theta - 2\theta_0)$ e $G(2\theta - 2\theta_0)$ representam as funções normalizadas de Lorentz e de Gauss, respectivamente, η é a fração lorentziana e $(1 - \eta)$ a fração gaussiana. O ajuste foi feito por meio do programa *Fityk*. Este programa permite analisar o perfil de cada reflexão ajustando a função escolhida e fornece a posição do pico, largura da meia altura (FWHM) e a fração lorentziana (η). Estes valores foram utilizados para a determinação dos parâmetros de rede. Os parâmetros de rede foram calculados a partir da equação de Bragg (equação (3.2)). Em seguida exportamos os dados e usamos o ângulo e o valor do comprimento de onda para encontrar as distâncias inter-planares, com isso podemos encontrar a ficha PDF da fase presente na amostra. Caso se suspeite que tenha mais de uma fase na amostra, subtraímos os valores da ficha encontrada e repetimos o processo para encontrar as outras fases, depois é feito o cálculo da área dos picos para determinar a porcentagem de cada fase na amostra.

5.2 - Análise de uma amostra de oxalato de cálcio monohidratado usando Refinamento Rietveld.

5.2.1 - Características das medidas objetivando análise de Rietveld

Nesta secção são apresentados os difratogramas feitos com radiação síncrotron em configuração de alta resolução na estação XPD do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron – LNLS. A configuração de alta resolução utilizada consiste em usar um cristal analisador de alta perfeição cristalina no feixe difratado, de modo que somente cheguem ao detector os fótons com a energia selecionada e também numa dispersão angular determinada pela perfeição cristalina do cristal analisador. Nestas medidas foi utilizado um cristal analisador de Ge da alta perfeição cristalina com orientação [111], que é a condição de mais alta resolução da estação XPD do LNLS. Por sua vez é a estação experimental que apresenta a melhor resolução das 3 estações de difração do laboratório síncrotron brasileiro. As medidas foram feitas em condições ambientes, a 20° C e com radiação monocromática de comprimento de onda $\lambda = 1.2400360 \text{ \AA}$ e detetor de cintilação. O comprimento de onda foi obtido a partir do refinamento, pelo método de Rietveld, do padrão certificado SRM-676 do NIST ($\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$), cujos parâmetros de rede certificados são [5]:
 $a = 4.75919 \pm 0.00044 \text{ \AA}$ e $c = 12.99183 \pm 0.000174 \text{ \AA}$.

A Fig.5.2 apresenta o difratograma para amostra com alta intensidade e perfis de alargamento muito baixo, conforme mostrado em detalhe na Fig.5.3.

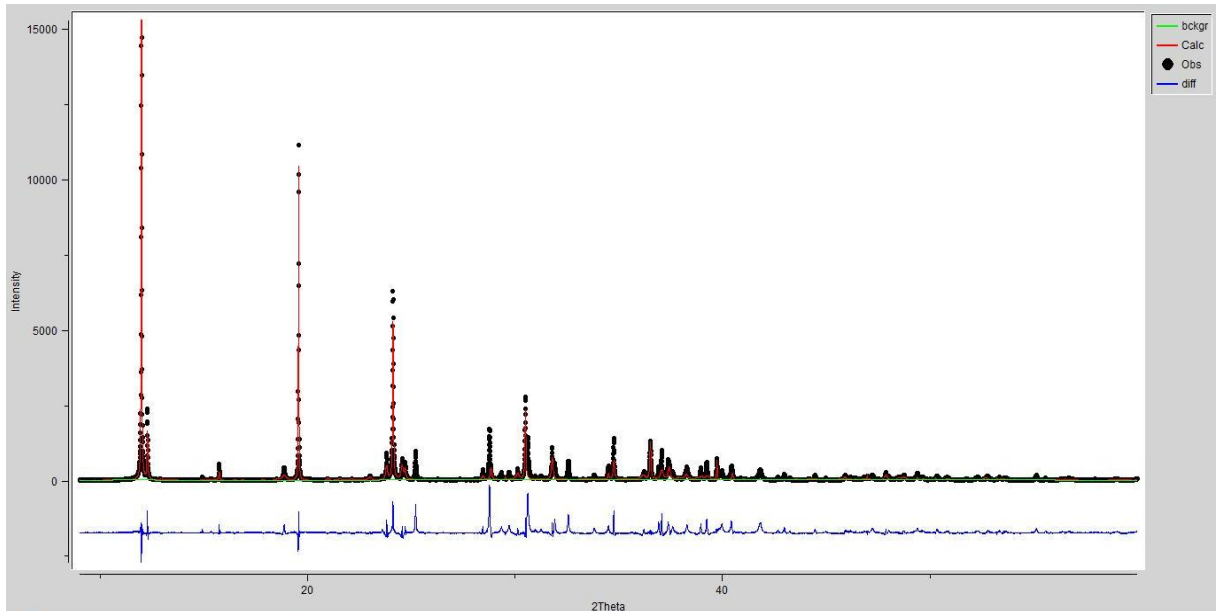


Figura 5.2 – difratograma da amostra ST540.

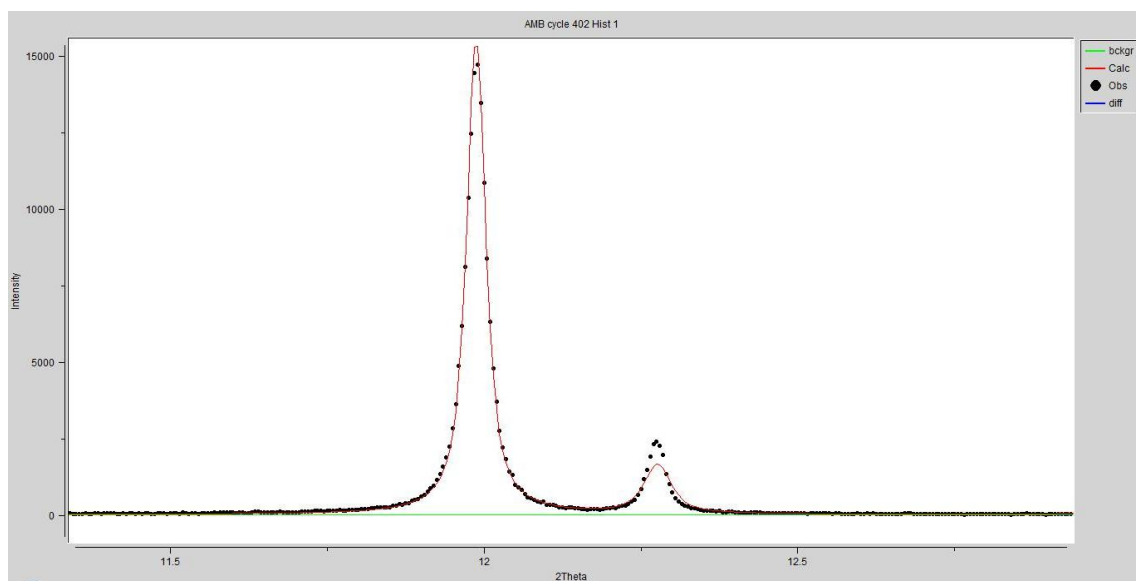


Figura 5.3 – Pico mais intenso e um pequeno pico ao seu lado da amostra ST540.

5.2.2- Análise Rietveld.

O refinamento pelo método Rietveld utilizando dos dados coletados no LNLS foi feito usando um pacote de programas do GSAS-EXPGUI [6, 7]. Para parametrização

inicial do refinamento da amostra usou-se uma proposta que está catalogada na ficha CIF30782 de oxalato de cálcio monohidratado, visto abaixo:

Nome: Oxalato de Cálcio Monohidratado
 Fórmula: $\text{Ca}(\text{C}_2\text{O}_4)(\text{H}_2\text{O})$
 Autores: Tazzoli, V., Domeneghetti, M.C
 Título: As estruturas cristalinas de whewellite e weddellite: reexame e comparação.
 Nome Mineral: Whewellite.
-Dados do cristal:
 Simetria Cristalina: monoclinico
 Grupo: $P 1 21/c 1$ (no. 14)
 Dimensões da célula unitária $a = 6,290(1)\text{Å}$
 $b = 14,583(1)\text{Å}$
 $c = 10,116(1)\text{Å}$
 $\beta = 109,46(2)^\circ$
 Volume da Célula $874,90(619)\text{Å}^3$

Tabela 5.1: Parâmetros da posição atômica do Oxalato de Cálcio da Proposta CIF 30782				
Atomo	Posição			Ocupação
	X	Y	Z	
Ca1	0,9676(1)	0,1243(1)	0,0546(1)	1
Ca2	0,9968(1)	0,1236(1)	0,4357(1)	1
C1	0,9832(1)	0,3201(1)	0,2452(2)	1
C2	1,0009(2)	0,4270(1)	0,2492(1)	1
C3	0,5189(2)	0,1266(1)	0,1812(1)	1
C4	0,4505(2)	0,1173(1)	0,3131(1)	1
O1	0,9756(2)	0,2826(1)	0,1322(1)	1
O2	1,0066(2)	0,4659(1)	0,1395(1)	1

Atomo	X	Y	Z	Ocupação
O3	0,9799(2)	0,2819(1)	0,3550(1)	1
O4	1,0073(2)	0,4658(1)	0,3614(1)	1
O5	0,3614(2)	0,1418(1)	0,0690(1)	1
O6	0,7245(2)	0,1227(1)	0,1974(1)	1
O7	0,2438(1)	0,1229(1)	0,2957(1)	1
O8	0,6073(1)	0,1068(1)	0,4264(1)	1
O9	0,3932(3)	0,3459(1)	0,1022(2)	0,85
O10	0,5913(3)	0,3829(3)	0,3908(2)	0,86
O11	0,388	0,396	0,099	0,15
O12	0,584	0,409	0,392	0,14
H1	0,487	0,372	0,051	0,85
H2	0,51	0,364	0,426	0,86
H3	0,53	0,367	0,32	0,86

Como estratégia de trabalho, as posições dos átomos de hidrogênio não foram refinadas durante o trabalho, ou seja, essas posições foram desconsideradas durante a análise de Rietveld, pois estes átomos apresentam um espalhamento indetectável mesmo utilizando luz síncrotron. Considerando essa afirmação podemos assumir que o efeito do espalhamento dos átomos de hidrogênio quase não aparece na difração de raios X. Com a ficha e os dados oriundos da máquina no LNLS, foi realizado refinamento para a determinação dos parâmetros do cristal estudado.

Referências.

- [1] KÖNIGSBERGER, Erich; KÖNIGSBERGER, LanChi. **Medical Aspects of Solubility**. Inglaterra: John Wiley & Sons Ltd, 2006.
- [2] KUPLICH, Letícia. **Biocristalografia do oxalato de calcio monohidratado presente em calculos renais**. 2008. Tese (Doutorado em Física) – Programa de Pós-Graduação em Física, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória.
- [3] <http://www.Inls.br> <http://www.Inls.br/> consultado em 27/10/2010.
- [4] fityk 0.8.6. Marcin Wojdyr. 2008
- [5] <https://www.nist.gov/srmors/certificates/676.pdf?CFID=1416999&CFTOKEN=3add94988215ea53-4B7E176C-9AB8-DC11D5404F5FF0359F9E&jsessionid=f03079230a4a50fa5540a385d1357161707> Acesso em: 12/01/2011
- [6] LARSON, A. C.; VON DREELE, R. B. “**General Structure Analysis System**” (**GSAS**). Los Alamos National Laboratory Report, LAUR. 2004
- [7] TOBY, B. H. **EXPGUI**. Usa interface gráfica do GSAS. J. Appl. Cryst. 2001

Capítulo 6 - resultados e discussões

6. Resultados.

Considerando a análise de composição de fases, resume-se que ao todo foram analisadas 56 cálculos renais diferentes. Dessas amostras analisadas verificou-se que cerca de 53% das pedras eram de oxalato de cálcio, sendo 21% era monofásico (oxalato de cálcio monohidratado) e 32% apresentavam uma mistura das hidratações do oxalato de cálcio, monohidratado e dihidratado. Os 39% das amostras apresentaram uma mistura de oxalato de cálcio com ácido úrico e fosfato de cálcio. A análise é sumarizada na Tabela 6.1 a seguir, os valores são mostrados em porcentagem.

Tabela 6.1 – Dados das pedras coletadas, composição e sexo do paciente.

(AU – Acido Úrico; Bru – Brunina; COM – Oxalato de Cálcio Monohidratado; Cod – Oxalato de cálcio Dihidratado; ESTR – Estruvina; Fca – Fosfato da Cálcio; Lc – L-Cistina; NI – Não Identificado).

amostra	sexo	COM	COD	FCa	AU	Lc	ESTR	Bru	NI
502	M	100							
503	M	65	35						
504	M	29	3		68				
506	F	100							
508	F	100							
509	M	89	11						
510	M	100							
512	M	50	12		38				
514	M	66	26		8				
516	M	51	18	31					
517	F		28	7	65				
518	M	100							

amostra	sexo	COM	COD	FCa	AU	Lc	ESTR	Bru	NI
520	F	82							18
521	F	60	20	11	9				
522	M	10							90
523	M	76	23		1				
524	M	94			6				
525	F	100							
526	M	84	6						10
530	M	100							
531	F	95	5						
532	F	100							
534	M	92	8						
536	F	89	11						
539	M	42	14	44					
540	F	100							
541	M		42		58				
542A	F	54							46
542B	F	54	42						
544	M	46	31						
545	M	100							
546	M	88							12
547	M	15			67			18	
548	M	63	34						
554A	F	26	21		25			28	
554B	F	28	22	26				24	
554C	F	56						44	
555A	M	45	25	30					
555C	M	26	15	11	22			26	
556	M	42	33	25					
557	F	18	7				21	54	

amostra	sexo	COM	COD	FCa	AU	Lc	ESTR	Bru	NI
558	F	48	24	28					
559	M	100							
561 A2	M	61	39						
562A1	F				100				
562	F				100				
563	M	28	39	26					7
564 A	F	66		21					12
565 A	M	100							
565B	M	77	23						
573	M	77		23					
575	M	49							
576	M	72	28						
578	M				100				
579	M				100				
580	M				100				

Uma das amostras de cálculo renal foi analisada por refinamento de Rietveld, onde ela era composta exclusivamente por $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Foi usado o programa DIAMOND [1], para visualizar o cristal da ficha usada como parâmetro inicial na análise de Rietveld.

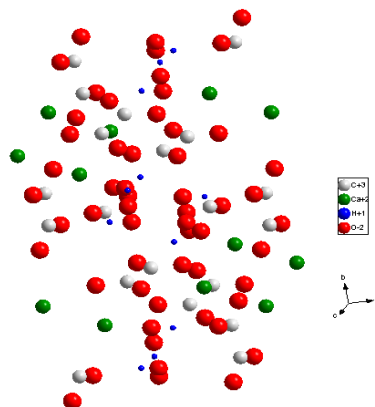


Figura 6.1 – Célula unitária de Oxalato de calcio monohidratado [1].

Para gerar um modelo cristalográfico utilizamos posições atômicas e simetria cristalina proposta na ficha CIF 30782 [2] do Ca (C₂O₄)(H₂O) encontrada na base de dados ICCD. Os dados da ficha se encontram abaixo:

Nome: Oxalato de Cálcio Monoidratado

Fórmula: Ca(C₂O₄)(H₂O)

Autores: Tazzoli, V., Domeneghetti, M.C

Título: As estruturas cristalinas de whewellite e weddellite: reexame e comparação.

Nome Mineral: Whewellite.

-Dados do cristal:

Fórmula: CaC₂O₄.H₂O

Simetria Cristalina : monoclinico

Grupo: *P* 1 21/c 1 (no. 14)

Dimensões da *a* = 6,290(1) Å

célula unitária *b* = 14,583(1) Å

c = 10,116(1) Å

β = 109,46(2) °

Volume da Célula 874,90(619) Å³

Coordenadas atômica:

Tabela 6.2- Valores atômicos da proposta usada durante o refinamento.

Atomo	Ox.	Ocupação	x	y	z
Ca1	+2		0,9676(1)	0,1243(1)	0,0546(1)
Ca2	+2		0,9968(1)	0,1236(1)	0,4357(1)
C1	+3		0,9832(1)	0,3201(1)	0,2452(2)
C2	+3		1,0009(2)	0,4270(1)	0,2492(1)
C3	+3		0,5189(2)	0,1266(1)	0,1812(1)
C4	+3		0,4505(2)	0,1173(1)	0,3131(1)
O1	-2		0,9756(2)	0,2826(1)	0,1322(1)
O2	-2		1,0066(2)	0,4659(1)	0,1395(1)
O3	-2		0,9799(2)	0,2819(1)	0,3550(1)

Atomo	Ox.	Ocupação	x	y	z
O4	-2		1,0073(2)	0,4658(1)	0,3614(1)
O5	-2		0,3614(2)	0,1418(1)	0,0690(1)
O6	-2		0,7245(2)	0,1227(1)	0,1974(1)
O7	-2		0,2438(1)	0,1229(1)	0,2957(1)
O8	-2		0,6073(2)	0,1068(1)	0,4264(1)
O9	-2	0,85	0,3932(3)	0,3459(1)	0,1022(2)
O10	-2	0,86	0,5913(3)	0,3829(3)	0,3908(2)
O11	-2	0,15	0,38800	0,39600	0,09900
O12	-2	0,14	0,58400	0,40900	0,39200
H1	+1	0,85	0,48700	0,37200	0,05100
H2	+1	0,86	0,51000	0,36400	0,42600
H3	+1	0,86	0,53000	0,36700	0,32000

Os valores de ocupação não listados equivalem a valores 1.

Retirando o hidrogênio da ficha acima e realizando o refinamento acabamos com o seguinte resultado:

Dados do refinamento:

Fórmula	C_2CaO_5
Simetria Cristalina	monoclínico
Grupo	$P 1 21/c 1$ (no. 14)
Dimensões da célula unitária	$a = 6,2959(0) \text{ \AA}$ $b = 14,5967(1) \text{ \AA}$ $c = 10,1210(1) \text{ \AA}$ $\beta = 109,47(0)^\circ$
Volume da Célula	$876,95(1) \text{ \AA}^3$
Densidade Calculada	$2,183 \text{ g/cm}^3$

Coordenadas atômica:

Tabela 6.3- Valores atômicos da proposta encontrada durante o refinamento.

Atomo	Ox.	Ocupação	x	y	z
Ca1	+2	1	0,9819(5)	0,12319(32)	0,05919(29)
Ca2	+2	1	0,0066(5)	0,12501(30)	0,43979(30)
C1	+3	1	0,4774(20)	0,6220(14)	0,3023(9)

Atomo	Ox.	Ocupação	x	y	z
C2	+3	1	-0,0053(28)	0,4603(9)	0,4104(14)
C3	+3	1	0,3314(19)	0,1371(10)	0,2943(11)
C4	+3	1	0,1539(18)	0,1030(9)	0,2724(12)
O1	-2	1	-0,0014(17)	0,2702(6)	0,1303(10)
O2	-2	1	-0,0029(16)	0,4579(5)	0,1358(9)
O3	-2	1	0,0068(19)	0,3297(4)	0,2343(10)
O4	-2	1	0,0062(16)	0,4611(6)	0,3187(8)
O5	-2	1	0,3771(12)	0,1372(7)	0,0565(7)
O6	-2	1	0,7346(12)	0,1255(9)	0,1897(7)
O7	-2	1	0,0037(16)	0,2765(6)	0,3628(10)
O8	-2	1	0,5922(13)	0,1133(6)	0,4000(6)
O9	-2	1	0,4032(14)	0,3543(6)	0,1012(8)
O10	-2	1	0,5876(14)	0,4021(6)	0,3943(8)

Analisando os dados encontrados das posições atômicas do oxalato de cálcio encontrado no cálculo presente na amostra (ST540) com a proposta usada no refinamento CIF 30782 podemos constatar que elas são diferentes, ou seja, o cálculo estudado pode apresenta uma outra forma da estrutura para o CaC_2O_4 .

Referências:

[1] KLAUS, Brandenburg. **Diamond**. Crystal Impact GbR. 2001

[2] <http://icsd.fiz->

[karlsruhe.de.w10001.dotlib.com.br/viscalc/jsp/listView.action?SESSIONID=B41CB6303932283E44E97E1C8DA19577](http://icsd.fiz-karlsruhe.de.w10001.dotlib.com.br/viscalc/jsp/listView.action?SESSIONID=B41CB6303932283E44E97E1C8DA19577), acessado em 08/06/2011.

Conclusões

7. Conclusões.

O estudo inicial de difração de raios X indicou a existência de pedras com composição monofásica de $\text{Ca}(\text{CO}_2)(\text{H}_2\text{O})$. Uma dessas pedras monofásicas, representativa do grupo de oxalato de cálcio monohidratado e rotulada como ST540, foi pulverizada. Essa pedra pulverizada foi submetida à difração de raios X através da radiação Síncrotron. O padrão de difração obtido foi estudado utilizando o método de refinamento Rietveld.

O resultado obtido após a simulação computacional e o refinamento de Rietveld foi de que o oxalato de cálcio encontrado nesta pedra de rim é uma forma polimórfica do oxalato da ficha usada no refinamento.

Portanto, com esta nova proposta foi possível justificar o padrão de difração obtido através do uso da difração de raios X de alta definição fornecido na linha de XPD do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron - Campinas - Brasil.

Essa nova proposta foi submetida à avaliação da Associação Internacional de Cristalografia para compor o banco de dados internacional.

Anexo

Ficha exemplo que o doador preencheu:

**Universidade Federal do Espírito Santo
Centro de Ciências Exatas - Departamento de Física
Grupo de Física Aplicada
Questionário para análise de Cálculo Renal**

Identificação da pedra

Data do recebimento da amostra: ___/___/___ Por: _____

Código da amostra	
Data em que expeliu/extraiu	
Características da(s) pedra(s)	

Dados pessoais

Nome completo:	
Sexo: () Masculino () Feminino	Cor:
Data de nascimento:	Local de nascimento:
Tipo sanguíneo: Fator RH:	Tempo de residência:
Altura: Peso:	
Profissão:	Tempo de serviço:

Endereço

Rua/Av:	
	Número:
Bairro:	Cidade:
CEP:	
Telefone residencial:	
Telefone trabalho:	
Telefone celular:	e-mail:

Como ficou sabendo da pesquisa?

Questionário Informativo Sobre o doador

1. Tem histórico de cálculo renal na família? () Sim () Não
Quem na família sofre/sofreu de cálculo renal? _____
2. Há quanto tempo sofre com cálculos renais? _____
3. Quantas vezes você teve pedras nos rins? _____
4. Você tem exames de médicos da época? Quais? _____

5. Fez ou faz algum acompanhamento médico? _____
Nome e telefone do médico que o (a) trata/tratou: _____
Fez algum tratamento para corrigir o problema? Qual? _____

6. Tipo sanguíneo: _____ Fator RH: _____
7. Pressão arterial: () normal () baixa () alta valor: [_____]
8. Taxa de colesterol: () normal () baixa () alta valor: [_____]
9. Taxa de triglicérides: () normal () baixa () alta valor: [_____]
10. Ácido úrico: () normal () baixa () alta valor: [_____]
11. Tem diabetes? () Sim () Não Valor [_____]
12. Fez ou faz algum tratamento hormonal (menopausa / andropausa)?
() Sim () Não
Qual? _____ Quanto tempo? _____
13. Qual(is) medicamento(s) que usa(ou) e qual o período e a frequência de uso?

14. Tem algum outro problema de saúde? Especificar:

15. Fuma? () Sim () Não
Quantos cigarros por dia? _____ Desde quando fuma? _____
Se for ex-fumante: Por quanto tempo fumou? _____ Quantos cigarros fumava por dia? _____
16. Consome bebidas alcólicas? () Sim () Não
Que tipo? _____
Que quantidade e frequência? _____

17. Pratica atividades físicas? () Sim () Não

Qual? _____

Com frequência? _____

18. Se considera uma pessoa ansiosa? () Sim () Não

19. Tem uma vida agitada? () Sim () Não

Sobre os hábitos alimentares

1. **Carne vermelha:** () sempre () às vezes () raramente () nunca

churrasco: () bem passado () ao ponto () mal passado

Quantidade: _____ Frequência: _____

2. **Verduras:** () sempre () às vezes () raramente () nunca

Quantidade: _____ Frequência: _____

3. **Peixe:** () sempre () às vezes () raramente () nunca

Quantidade: _____ Frequência: _____

4. **Mariscos:** () sempre () às vezes () raramente () nunca

Quantidade: _____ Frequência: _____

5. **Leite:** () sempre () às vezes () raramente () nunca

Quantidade: _____ Frequência: _____

6. **Queijos e derivados:** () sempre () às vezes () raramente () nunca

Quantidade: _____ Frequência: _____

7. **Frutas cítricas:** () sempre () às vezes () raramente () nunca

Quantidade: _____ Frequência: _____

8. **Tomate:** () sempre () às vezes () raramente () nunca

Consome o miolo do tomate? () Sim () Não

Quantidade: _____ Frequência: _____

9. **Ovos :** () sempre () às vezes () raramente () nunca

Quantidade: _____ Frequência: _____

10. **Faz (ou fez) uso de vitamina C?** () Sim () Não

Quantidade: _____ Frequência: _____

11. **Consome pimenta?** () Sim () Não

Que tipo? _____ Que quantidade? _____

Com que frequência? _____

12. **Consome muita gordura ou frituras?** () Sim () Não

Que quantidade? _____

Com que frequência? _____

13. **Qual o consumo diário de água?** _____

Após a ocorrência do cálculo houve alguma mudança nos hábitos alimentares ? Quais?

Tratamentos e intervenções médicas realizadas

Médico(s) responsável(is):

Espaços para demais comentários e observações
