

Giorgio Santoriello

## **CAPITOLO 4**

---

GLI ELEMENTI IN TRACCE NEI CALCOLI RENALI

## 4.1 INTRODUZIONE

Il ruolo degli elementi chimici nel corpo umano è di vitale importanza. Una carenza, un eccesso o un semplice disequilibrio nel contenuto di un particolare elemento può generare tutta una serie di patologie.

Le patologie associate a microelementi come Fe, Cu, Se, Zn, Pb, Sr, Mn e altri, vengono studiate da oltre due decenni, portando alla definizione di una serie di cause di morte di origine biogeochimica [Avtsin et al. 1991].

Gli elementi chimici possono entrare in contatto con il corpo umano attraverso l'inalazione, l'ingestione ed il contatto con la pelle mentre sono liberati dall'ambiente circostante attraverso l'aria, l'acqua ed il cibo [Pouls & Payne 2006].

L'inquinamento atmosferico ha contribuito ad aumentare la quantità ed il tipo di elementi che possono raggiungere il corpo umano. Questi elementi hanno una grande affinità con gli elementi essenziali del Gruppo II (Ca, Mg) sostituendoli in strutture organiche ed inorganiche. Possono formare dei complessi insolubili che fungono da base per la formazione di mineralizzazioni patologiche quali i calcoli renali [Paluszkiewicz et al. 1997; Wu et al. 1997; Zhou et al. 1997].

Hammarsten, nel 1929, scopriva come la sostituzione di Co, Mg e Ni nei confronti del calcio faceva incrementare la solubilità dei calcoli di ossalato. Meyer & Angino [1977] hanno studiato gli elementi chimici in quanto possibili inibitori o promotori della crescita cristallina in soluzioni urinarie. Alcuni metalli, come Pb, Cd, Ni e Al ad esempio, potrebbero essere coinvolti nei processi di induzione cristallina, concentrandosi preferenzialmente al nucleo dei calcoli [Durak et al. 1992; Perk et al. 2002]. Elementi come il magnesio [Oka et al. 1987], lo zinco e l'alluminio [Grases et al. 1989; Sutor 1969] hanno comprovato effetti inibitori, mentre il ruolo di altri elementi è ancora oggetto di studio, pertanto il dibattito rimane aperto [Durak et al. 1992; Grases et al. 1989; Meyer & Thomas 1982; Oka et al. 1987; Perk et al. 2002; Sutor 1969].

Gli studi relativi alla valutazione in vitro degli effetti degli elementi in tracce sulla calcologenesi sono piuttosto diffusi mentre è relativamente scarsa la letteratura che si occupa del dosaggio di elementi in tracce nei calcoli renali [Hesse et al. 1977; Joost & Tessadri 1987; Levinson et al. 1978; Meyer & Angino 1977].

A prescindere dal ruolo svolto dagli elementi in tracce nella calcologenesi, i loro tenori nelle urine possono essere interpretati in termini di monitoraggio ambientale: i calcoli renali, infatti, in base agli elementi che riescono ad intrappolare nella loro struttura possono essere utilizzati come utili indicatori ai fini dell'individuazione di aree che presentano anomalie di concentrazione chimica.

## 4.2 MATERIALI E METODI

I campioni (48) destinati all'analisi chimica sono stati selezionati sulla base della tipologia e dimensione del calcolo come da tabella allegata. Gli elementi dosati sono quelli che rivestono un ruolo importante nel processo di cristallizzazione (Ca, Mg, K, Zn) e/o perché potenzialmente tossici (Pb, Cr).

**Tabella 4.1 Numero e tipo di calcoli selezionati per l'analisi chimica**

*Number and type of kidney stones selected for the analysis*

TIPO	DESCRIZIONE	N. campioni totali	N. campioni analizzati
1	Ossalato di calcio monoidrato papillare	9	5
2	Ossalato di calcio monoidrato di cavità	15	9
3	Ossalato di calcio bi-idrato	26	14
4	Misto: ossalato di calcio bi-idrato + idrossiapatite	7	3
6	Struvite	3	3
8	Acido urico	14	10
9	Misto: ossalato di calcio monoidrato + acido urico	5	3
10	Cistina	1	1
	<b>TOTALE</b>	<b>80</b>	<b>48</b>

Il dosaggio degli elementi chimici è stato eseguito tramite spettrometria ottica (ICP-OES, dosaggi in ppb) e spettrofotometria in assorbimento atomico (AAS, dosaggi in ppm).

La fase preparativa del campione è comune ad entrambe le tecniche. Questa consiste in un processo di digestione standard.

Una porzione sufficientemente rappresentativa del campione, pari a circa 60 mg, è stato polverizzato in un mortaio di agata. Al fine di testare la validità della tecnica per il dosaggio, il quantitativo di polvere è stato suddiviso in due porzioni che sono state decomposte separatamente.

Ogni porzione composta da 30mg di solido è stata disciolta in una soluzione di 3 ml di HNO<sub>3</sub> (70%) e 0.5 ml HClO<sub>3</sub>. La digestione è avvenuta a bagno maria a 70°C per 1 ora. Al termine del periodo di digestione, tutti i calcoli renali risultavano completamente disciolti.

Le soluzioni così ottenute sono state diluite con acqua distillata Milli-Q e conservate alcuni giorni in contenitori da 50 mL in frigo sino al dosaggio.

La variabilità dei risultati relativi agli elementi in tracce sulle due porzioni dello stesso campione è inferiore al 5%.

### LA SPETTROMETRIA OTTICA (ICP)

Lo strumento utilizzato per il dosaggio di alcuni elementi in tracce è a disposizione presso i laboratori dell'Istituto di Metodologie per l'Analisi Ambientale del Consiglio nazionale delle Ricerche di Tito Scalo (Pz); si tratta di uno spettrometro ottico in emissione al plasma accoppiato induttivamente (Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectrometers, ICP-OES) modello Vista mpX marca Varian.

La spettrometria ottica di emissione si basa sull'assunto che la concentrazione di uno specifico elemento in un campione è correlata all'intensità delle linee nel suo spettro ottico. I rapporti tra intensità di luce e concentrazione dell'analita sono dati dalle misure dell'emissione di luce di soluzioni a concentrazione nota (standards).

L'esecuzione dell'analisi tramite ICP-OES ha seguito una serie di tappe:

- 1) selezione degli elementi da analizzare;
- 2) preparazione delle soluzioni dei campioni;
- 3) preparazione di una serie di soluzioni di calibrazione (STD) che contengano concentrazioni accurate e note degli elementi da analizzare e con un opportuno intervallo di concentrazione a seconda degli elementi;
- 4) vaporizzazione delle soluzioni STD e dei campioni sul plasma registrando così le intensità delle linee di emissione appropriate;
- 5) costruzione dei grafici di calibrazione per ogni elemento dalle intensità di emissione delle soluzioni STD;
- 6) determinazione delle concentrazioni degli elementi per ogni campione a partire dai grafici di calibrazione;
- 7) calcolo delle concentrazioni dei campioni originali tenendo conto degli eventuali fattori di diluizione.

I passaggi dal 4 al 6 vengono eseguiti automaticamente dal software che gestisce lo strumento. Con questa tecnica sono stati dosati Ca, Mg, K, Fe e Zn.

### LA SPETTROFOTOMETRIA IN ASSORBIMENTO ATOMICO (AAS)

Lo strumento utilizzato per il dosaggio di Cr, Pb, Mn e Cu è a disposizione presso i laboratori dell'Istituto di Metodologie per l'Analisi Ambientale del Consiglio nazionale delle Ricerche di Tito Scalo (Pz); si tratta di uno spettrofotometro in assorbimento atomico (AAS) modello spectra AA 200 marca Varian corredato di fornello di grafite e sistema fiamma.

La spettrofotometria di assorbimento atomico è una delle tecniche più usate per l'analisi degli elementi in tracce (soprattutto metalli) in matrici di ogni genere: da quelle ambientali, come acque e suoli, fino agli alimenti e alle leghe metalliche.

L'elemento in esame viene atomizzato e bersagliato con radiazioni di lunghezza d'onda opportuna e, per effetto dell'assorbimento atomico, l'intensità del raggio diminuisce e l'attenuazione può essere correlata alla concentrazione.

Per quanto riguarda gli elementi determinabili, i limiti sono essenzialmente strumentali e derivano dall'assorbimento dell'ossigeno nell'aria e, soprattutto, dal fatto che con il sistema di atomizzazione a fiamma i gas caldi assorbono le radiazioni in determinate regioni spettrali.

Ogni spettrofotometro per assorbimento atomico è corredato di un manuale che riporta, per ciascun elemento, le diverse righe analitiche, l'ampiezza ottimale della fenditura, la sensibilità relativa per una determinata riga spettrale e l'intervallo di linearità.

Per la determinazione quantitativa il metodo della retta di taratura è il più usato. Essa consiste nel costruire una retta di taratura preparando soluzioni standard e misurandone l'assorbanza. Dalla retta, in base ai valori di assorbanza, si può risalire alla concentrazione dell'analita in campioni incogniti.

Per le analisi richieste è stato utilizzato un sistema di atomizzazione senza fiamma, chiamato a fornetto di grafite.

Si tratta di un sistema interamente automatizzato, che consente sia di abbassare notevolmente (sino a 1000 volte) i limiti di rilevabilità, sia di lavorare su aliquote molto piccole di campione per tempi brevi di analisi (da 2 min a 30 sec).

Un piccolo volume di campione (20 – 100  $\mu$ l) viene introdotto nel tubo di grafite, posto sul cammino ottico della radiazione emessa dalla sorgente. Nel tubo fluisce un gas inerte, che espelle l'aria rendendo l'atmosfera non ossidante e quindi adatta a far rimanere gli atomi del campione allo stato fondamentale.

Il tubo viene riscaldato elettricamente secondo un programma a tre stadi a temperature crescenti che portano in successione a: evaporazione del solvente; incenerimento; atomizzazione.

La misura di assorbimento viene fatta sui vapori atomici che si liberano rapidamente nello stadio finale del riscaldamento.

Il segnale che si ottiene è un picco la cui area (o l'altezza) è direttamente proporzionale alla concentrazione dell'analita presente allo stato atomico nel tubo di grafite.

Questa tecnica ha permesso il dosaggio di Cr, Pb, Mn e Cu.

### 4.3 RISULTATI

#### 4.3.1 Contenuto di elementi in tracce nei calcoli

I risultati delle analisi chimiche sono stati riportati sotto forma di valori medi con relativa deviazione standard (tab. 4.2).

**Tabella 4.2** Contenuto medio degli elementi dosati in diverse tipologie di calcolo  
*Average element concentration in different kidney stone types*

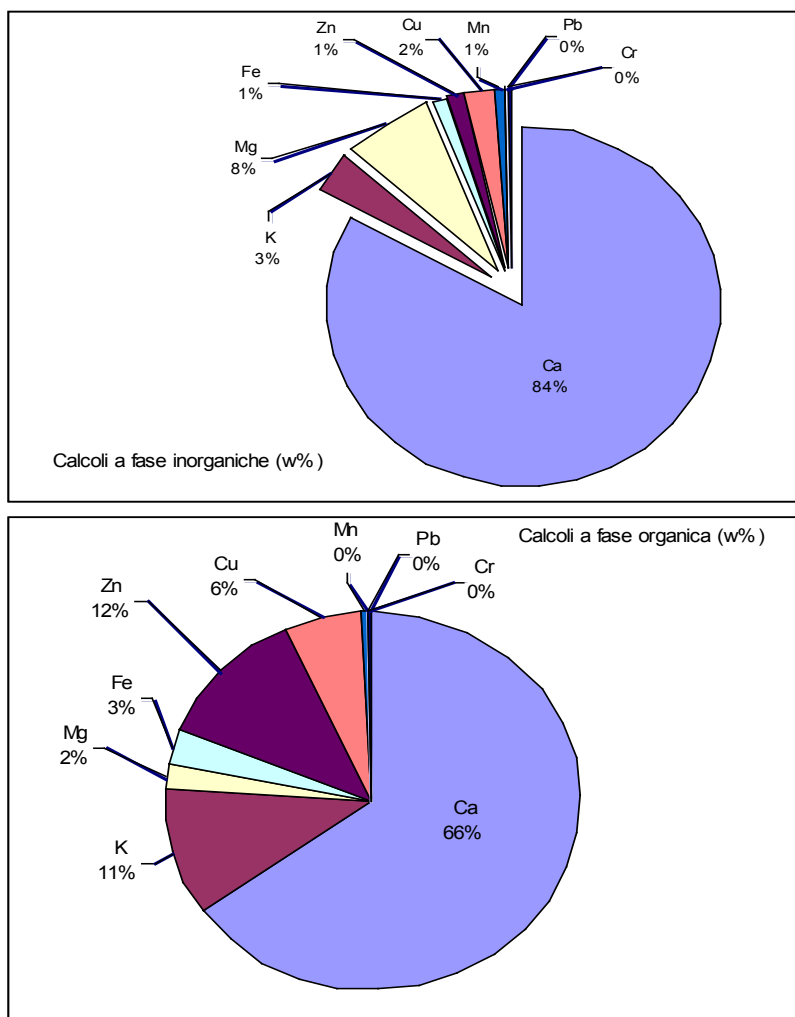
TIPO calcolo	Ca w%	K w%	Mg w%	Fe w%	Zn w%	Cu w%	Mn w%	Pb w%	Cr w%
<b>1</b>	26.778	0.207	0.293	0.227	0.021	0.622	0.084	0.068	0.046
$\sigma$	$\pm 1.747$	$\pm 0.037$	$\pm 0.036$	$\pm 0.079$	$\pm 0.006$	$\pm 0.161$	$\pm 0.048$	$\pm 0.006$	$\pm 0.004$
<b>2</b>	24.682	0.715	0.814	0.222	0.059	0.630	0.088	0.066	0.038
$\sigma$	$\pm 1.724$	$\pm 0.535$	$\pm 0.984$	$\pm 0.111$	$\pm 0.029$	$\pm 0.145$	$\pm 0.072$	$\pm 0.012$	$\pm 0.006$
<b>3</b>	23.524	0.322	0.611	0.269	0.119	0.996	0.158	0.082	0.051
$\sigma$	$\pm 4.081$	$\pm 0.161$	$\pm 0.389$	$\pm 0.072$	$\pm 0.065$	$\pm 0.333$	$\pm 0.040$	$\pm 0.013$	$\pm 0.013$
<b>4</b>	23.558	1.083	1.104	0.215	0.567	0.593	0.151	0.083	0.026
$\sigma$	$\pm 1.907$	$\pm 0.009$	$\pm 0.054$	$\pm 0.059$	$\pm 0.352$	$\pm 0.015$	$\pm 0.078$	$\pm 0.040$	$\pm 0.000$
<b>4*</b>	21.919	0.738	1.552	0.382	0.513	0.772	0.181	0.087	0.052
$\sigma$	$\pm 7.987$	$\pm 0.808$	$\pm 0.138$	$\pm 0.001$	$\pm 0.525$	$\pm 0.078$	$\pm 0.016$	$\pm 0.039$	$\pm 0.032$
<b>6</b>	16.109	2.145	9.629	0.421	0.953	0.338	0.205	0.039	0.033
$\sigma$	$\pm 3.927$	$\pm 0.412$	$\pm 1.272$	$\pm 0.349$	$\pm 0.364$	$\pm 0.117$	$\pm 0.273$	$\pm 0.016$	$\pm 0.021$
<b>8</b>	2.645	1.374	0.051	0.216	0.201	0.635	0.063	0.005	0.019
$\sigma$	$\pm 1.951$	$\pm 0.404$	$\pm 0.023$	$\pm 0.104$	$\pm 0.051$	$\pm 0.102$	$\pm 0.082$	$\pm 0.002$	$\pm 0.009$
<b>9</b>	16.523	1.163	0.145	0.265	0.154	0.530	0.194	0.047	0.019
$\sigma$	$\pm 2.129$	$\pm 0.215$	$\pm 0.072$	$\pm 0.156$	$\pm 0.039$	$\pm 0.246$	$\pm 0.187$	$\pm 0.014$	$\pm 0.003$
<b>10</b>	6.190	0.144	0.218	0.197	1.405	0.220	0.000	0.008	0.011
$\sigma$	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Oltre al calcio, non tutti gli elementi dosati possono essere considerati elementi in tracce o minori, eccedendo l'1% in peso del campione. Questo si verifica per il K che può essere considerato elemento minore per i calcoli di struvite, di acido urico e di alcuni calcoli misti (gruppo 4, 4\* e 9), e per il Mg che è un elemento maggiore per la struvite e possiamo considerarlo elemento minore per i calcoli di acido urico e di alcuni calcoli misti (gruppo 4, 4\* e 9).

Si può osservare come all'interno dello stesso gruppo di calcoli, la variabilità del dato è molto alta.

Un primo confronto è stato fatto suddividendo i calcoli in due grandi categorie (fig. 4.1):

- calcoli a fasi inorganiche (a prevalente componente calcica: calcoli di tipo 1, 2, 3, 4, 4\*, 6, 9);
- calcoli composti da componenti organiche (acido urico tipo 8 o cistina tipo 10).

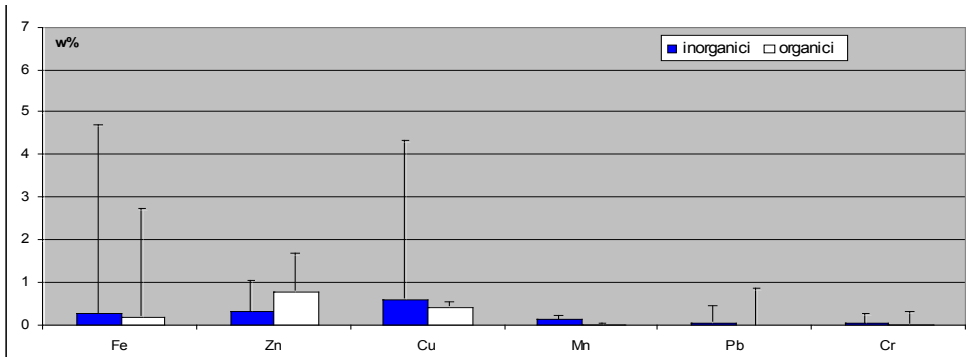


**Figura 4.1** Distribuzione media degli elementi dosati tra calcoli a componente organica ed inorganica  
Average element distribution in inorganic and organic kidney stones

I calcoli a maggiore componente inorganica contengono una maggiore quantità di Cu, Mn, Fe, Pb e Cr e minore quantità di Zn rispetto ai calcoli organici (fig. 4.2).

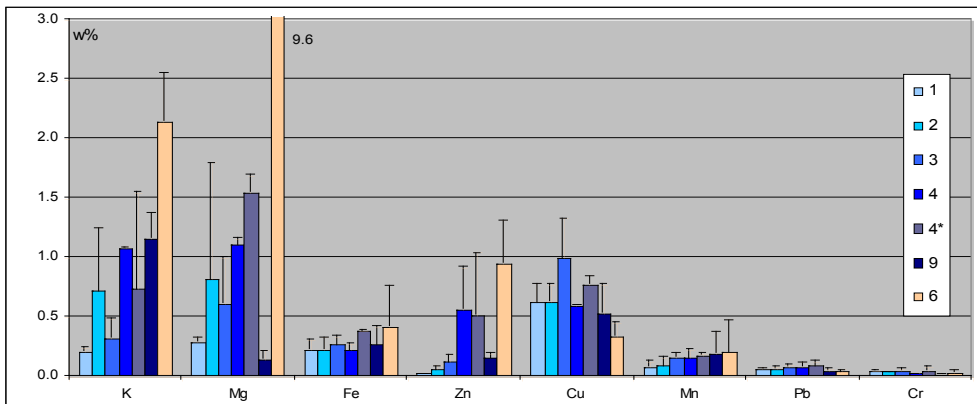
Anche all'interno del gruppo dei soli calcoli inorganici si osservano delle differenze nella distribuzione degli elementi dosati (fig.4.3).

I calcoli misti formati da ossalati in combinazione con acido urico (tipo 9) ed idrossapatite (tipo 4), contengono più quantità di K, Mn e Zn rispetto a calcoli composti esclusivamente da ossalati (tipo 1, 2, 3).



**Figura 4.2** Confronto tra il contenuto in elementi in tracce tra i calcoli a componente inorganica ed organica

*Comparison between trace element concentration in inorganic kidney stones and organic ones*



**Figura 4.3** Confronto tra il contenuto in elementi in tracce tra i diversi tipi di calcoli a componente inorganica

*Comparison between trace element concentration in different inorganic kidney stones*

Anche se in piccole quantità, il Pb ed il Cr sono rilevati in tutti i tipi di calcoli.

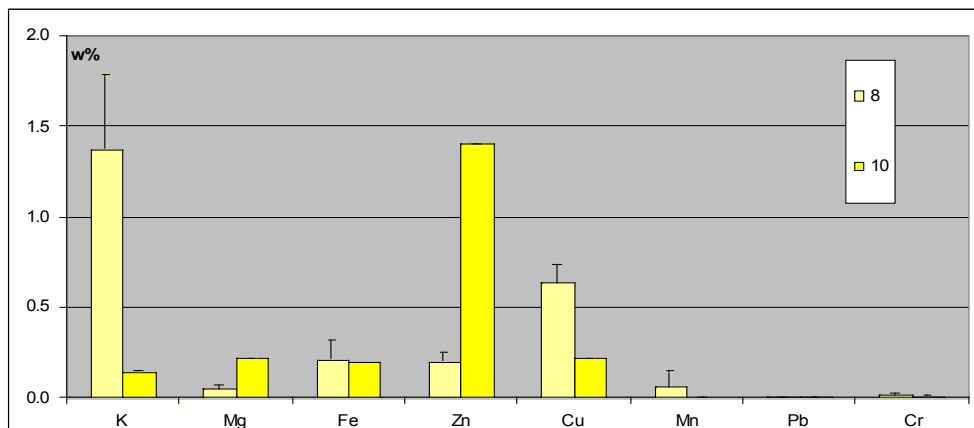
Le elevate quantità di magnesio nei calcoli di struvite sono giustificate dal fatto che questo elemento è uno dei componenti principali della fase minerale. La struvite presenta anche alti valori di K, Fe, Zn e Mn.

Tra i calcoli organici, che rappresentano spesso calcoli puri, si osserva una maggiore quantità di K e Cu nei calcoli di acido urico rispetto a quelli di cistina, che registra, invece, alti valori di Zn e Mg.

Non si osserva manganese nei calcoli della cistina.

Piccole quantità rilevabili di Pb e Cr sono presenti in entrambe le tipologie di calcolo.





**Figura 4.4** Confronto tra il contenuto in elementi in tracce tra i diversi tipi di calcoli a componente organica

*Comparison between trace element concentration in different organic kidney stones*

#### IL CALCIO E GLI ALTRI ELEMENTI

Il calcio è l'elemento fondamentale nella whewellite e weddellite, le due forme di ossalato di calcio ma risulta essere presente in tutte le altre tipologie di calcoli, anche se in piccole quantità.

L'elevata percentuale di calcio nei calcoli renali è legata alla quantità di Ca ingerito con la dieta. Buona parte del calcio ingerito è legato al consumo di acque dure.

Su alcuni campioni di calcoli di whewellite, caratterizzati da particolari variazioni cromatiche corrispondenti a micro ritmi di crescita, è stata determinata la variazione quantitativa di alcuni elementi (in particolare il Ca ed il P).

Il dosaggio è avvenuto attraverso il sistema SEM-EDS su sezioni sottili. Le condizioni strumentali adattate sono già state descritte nel paragrafo 3.2.2.

Il quantitativo di calcio sembra seguire degli andamenti abbastanza regolari con picchi in corrispondenza di alcune zone a maggior concentrazione (fig. 4.5).

Queste zone, se osservate con gli elettroni retrodiffusi, appaiono come bande chiare.

In corrispondenza di queste zone più chiare si registra anche un aumento di P, deducendo che sono zone costituite da idrossapatite (fig. 4.6).

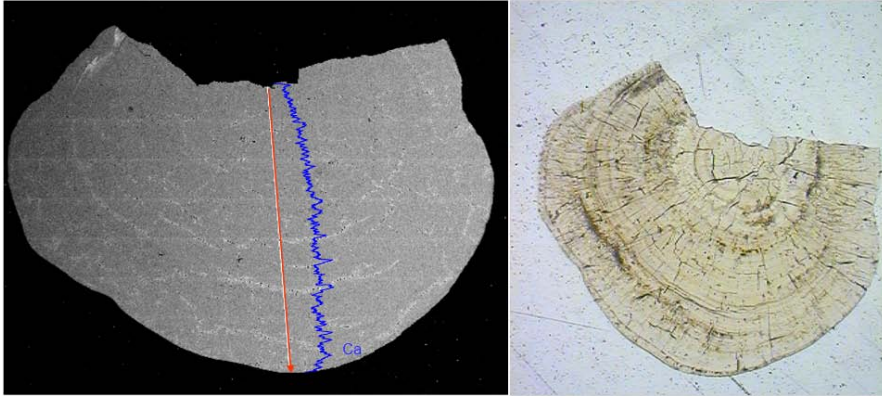
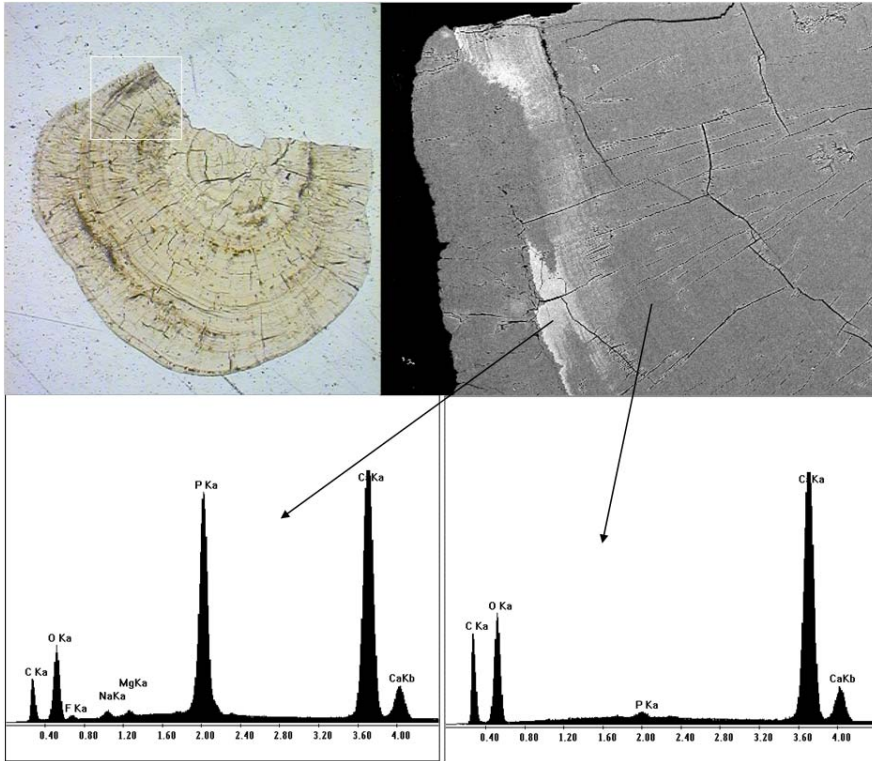
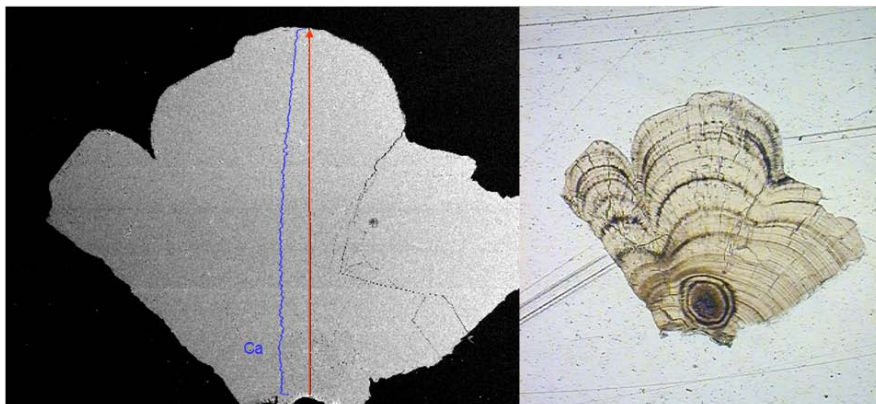


Figura 4.5 Andamento della concentrazione di calcio in un calcolo di whewellite (#54)



*Calcium concentration pattern in whewellite kidney stone*  
 Figura 4.6 Spettri EDS di due aree di una porzione del calcolo di whewellite di fig. 4.5  
*EDS spectra of two area in a particular zone of whewellite kidney stone on fig. 4.5*

L'andamento generale del calcio segnala una diminuzione quantitativa dall'interno verso l'esterno di alcuni calcoli di whewellite papillare e di cavità (fig. 4.7).

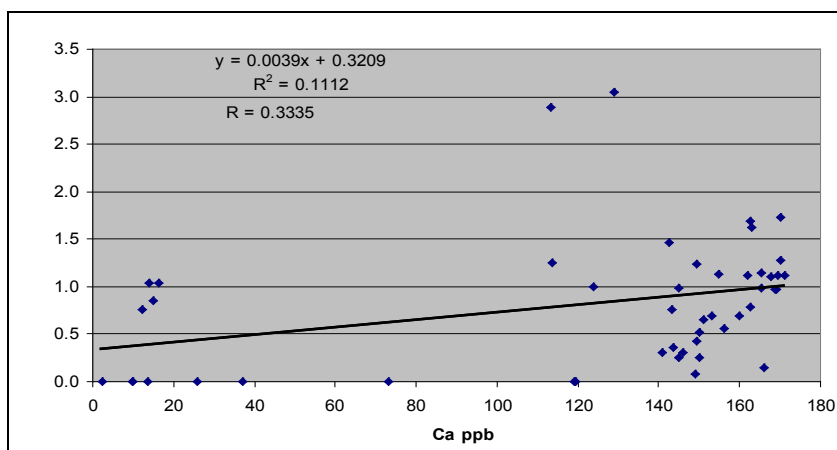


**Figura 4.7** Andamento della concentrazione di calcio in un calcolo di whewellite papillare (#47)  
*Calcium concentration pattern in whewellite papillar kidney stone*

Il comportamento del calcio, in qualità di elemento maggiore, è stato analizzato nei confronti degli altri elementi.

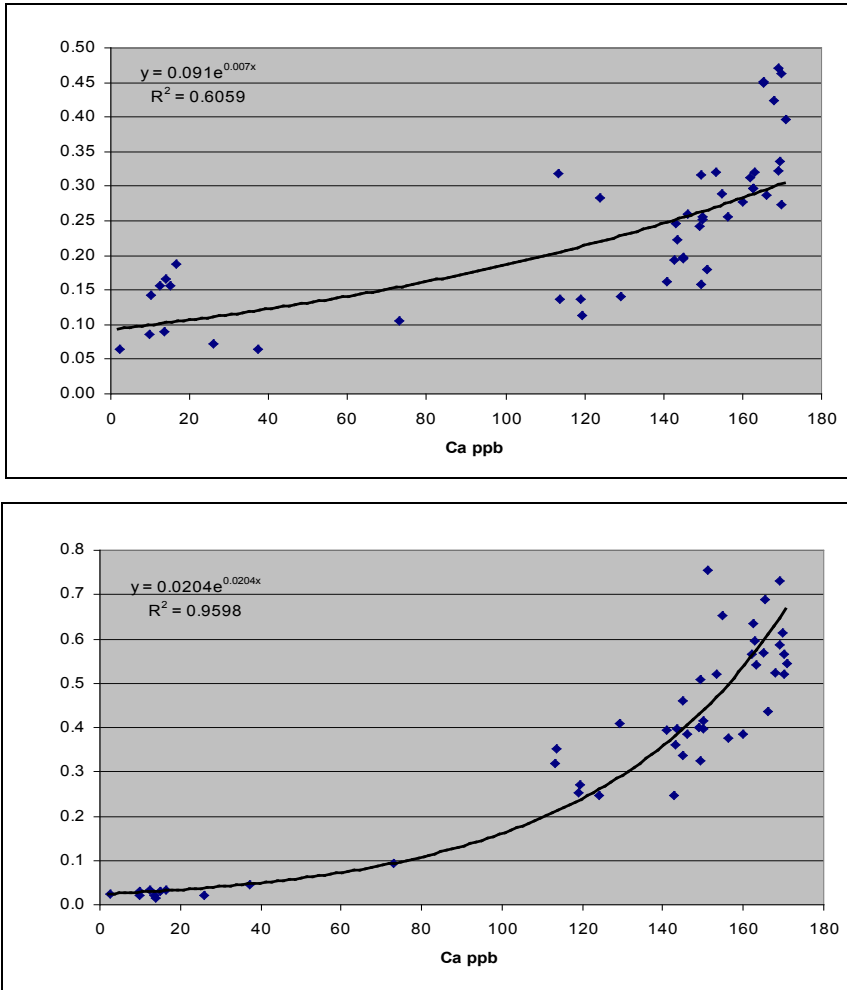
In base al valore del coefficiente di correlazione più elevato (verificata la sua significatività con il Fisher Test), le relazioni che intercorrono tra il Ca e gli altri elementi sono diverse.

Si osserva una debole relazione lineare solo con il Mn e lo Zn ma con una proporzionalità differente, diretta ed inversa rispettivamente (fig. 4.8).



**Figura 4.8** Contenuto medio di calcio vs. manganese in correlazione lineare  
*Average calcium content vs. manganese content in linear correlation*

La relazione è invece esponenziale per il Fe, il Mg ed il Cr anche se meno evidente rispetto alla relazione esponenziale osservata con il piombo (fig. 4.9).

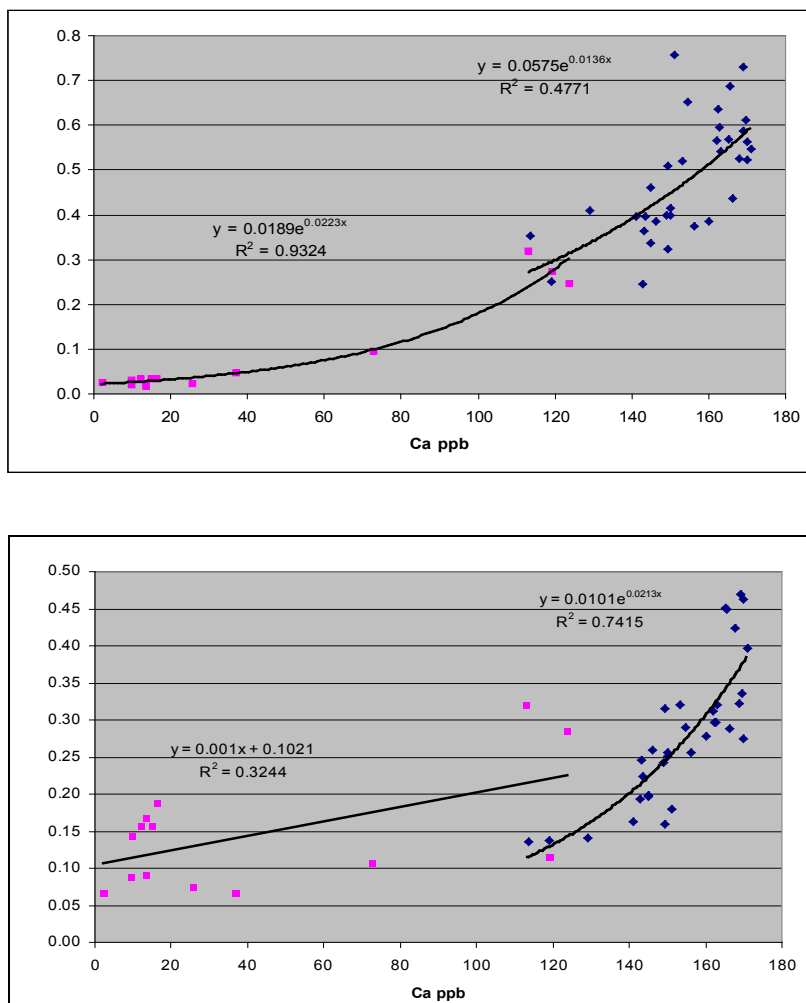


**Figura 4.9** Contenuto medio di calcio vs. cromo e vs. piombo in correlazione esponenziale  
*Average calcium content vs. chromium and lead content in exponential correlation*

Nei diagrammi è comunque possibile distinguere due clusters di dati corrispondenti alle due classi di calcoli differenti: inorganici e organici. E' necessario trovare una correlazione all'interno dei singoli clusters.

Mentre per il Pb la relazione esponenziale con il Ca si ottiene anche separando le due categorie di calcoli, per il Cr si osserva invece una relazione lineare con il calcio nei calcoli organici (fig. 4.10).

Per gli altri elementi la separazione del dato non migliora la correlazione.



**Figura 4.10** Contenuto medio di calcio vs. cromo e vs. piombo in correlazione esponenziale nei calcoli a componente inorganica (blu) ed organica (fucsia)

*Average calcium content vs. chromium and lead content in exponential correlation in inorganic kidney stones (blue) and organic ones (fucsia)*

Ulteriori correlazioni lineari sono state osservate combinando tra loro gli altri elementi e le fasi mineralogiche riscontrate. Queste sono segnalate da alti valori significativi del coefficiente di correlazione lineare (evidenziati in rosso) considerando il numero di campioni analizzati ( $R > 0.243$  per 90% di confidenza o  $R > 0.465$  per 99.9% di confidenza) (tab. 4.3).

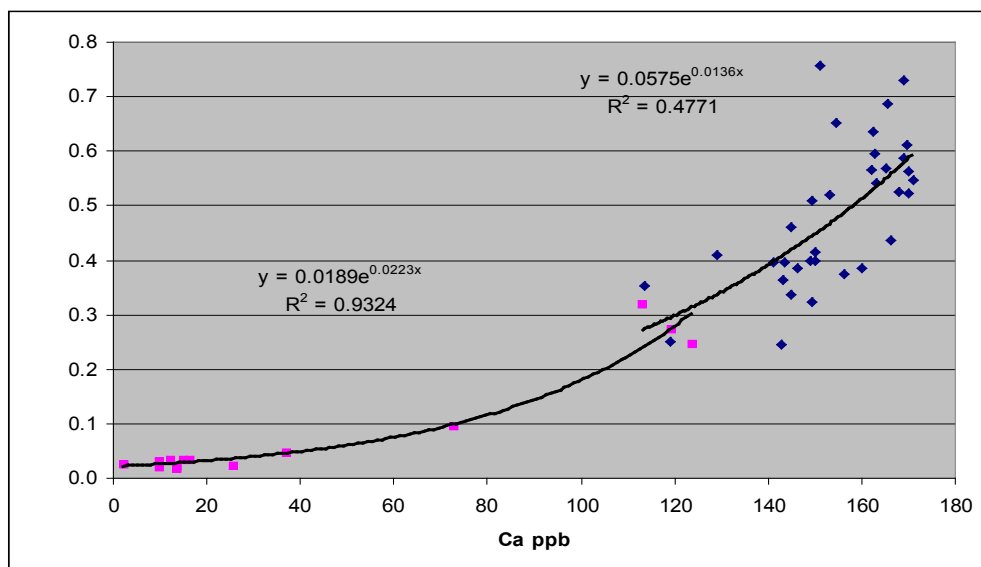


## LA DISTRIBUZIONE DEGLI ELEMENTI NELLE FASI MINERALOGICHE

I calcoli di tipo 3, composti in prevalenza da weddellite mostrano valori più elevati di elementi in tracce specie Zn, Mn, Fe e Cu rispetto ai calcoli composti prevalentemente da whewellite (calcoli di tipo 1 e 2) in accordo con Levinson et al. [1978] e Joost & Tessadri [1987] (fig.4.11).

Questo è ancora più evidente diagrammando il contenuto medio degli elementi riscontrati nei calcoli di weddellite contro quello ritrovato nei calcoli di whewellite. Quanto più un elemento si discosta dalla diagonale, tanto maggiore sarà la disparità di accumulo nei due minerali.

Si osserva che non esiste una perfetta relazione 1:1 tra gli elementi, anzi è interessante notare come sia la weddellite (la fase bi-idrata di ossalato) a contenere più quantità di elementi in traccia.

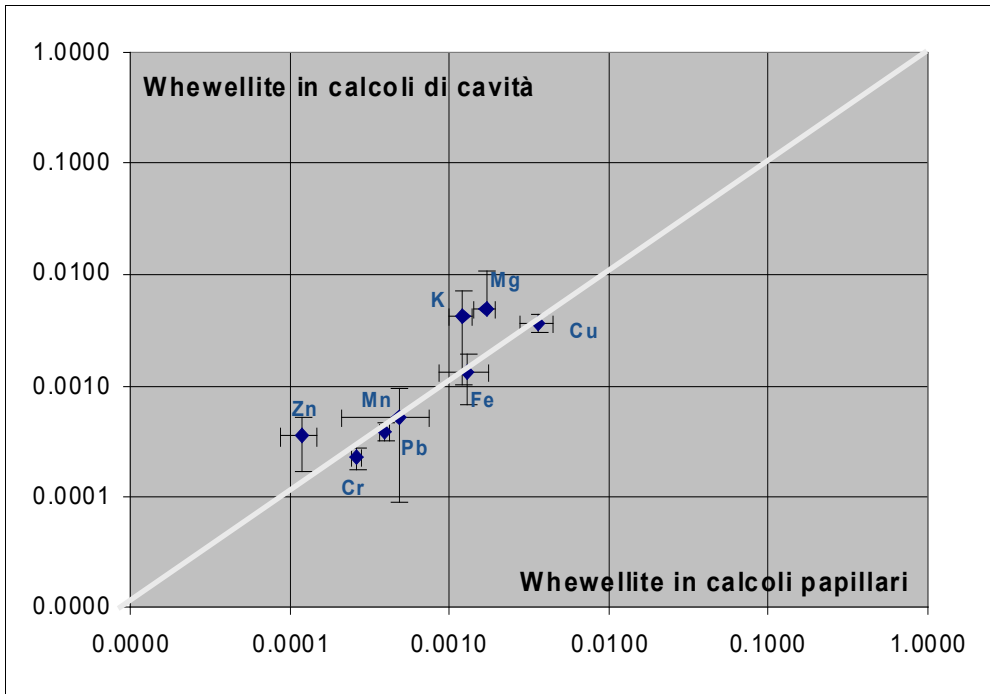


**Figura 4.11 Confronto tra le concentrazioni medie di elementi nei due ossalati**  
*Comparison between average element concentrations in oxalate kidney stones*

Anche tra le due tipologie di calcoli composti dalla stessa fase minerale, whewellite, ci sono delle differenze di concentrazione di elementi in traccia.

Il K, Mg e Zn sono più abbondanti nella whewellite che si forma in cavità renali.

Tra questi due tipi di calcoli è stata riscontrata anche una differenza nelle dimensioni della cella elementare; è possibile che il diverso contenuto in elementi in tracce possa spiegare questa diversità.



**Figura 4.12 Confronto tra le concentrazioni medie di elementi nei due tipi di calcoli composti in prevalenza da whewellite**

*Comparison between average element concentrations in the two kind of whewellite prevalent kidney stones*

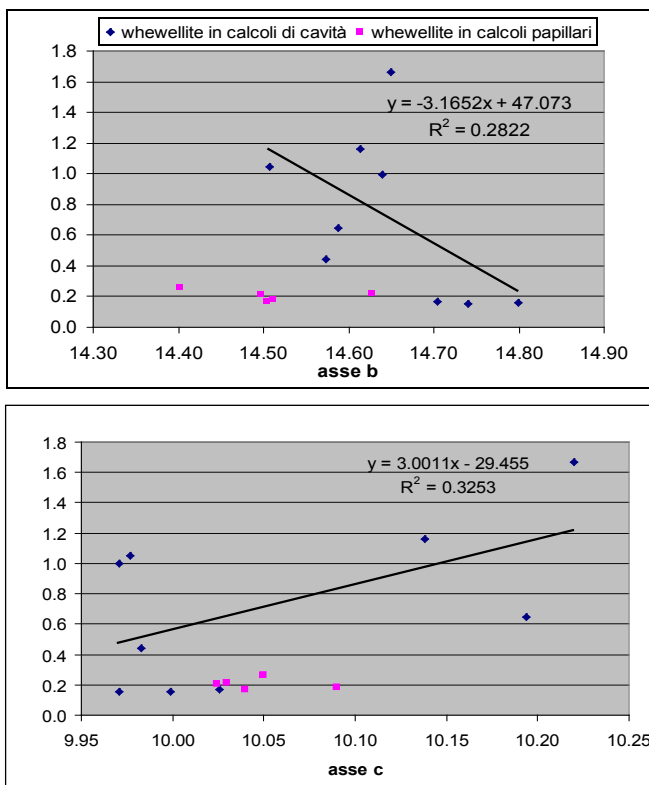
Sono stati diagrammati i valori dei parametri di cella e del volume con tutti gli elementi in traccia dosati nei calcoli di whewellite di cavità e papillari.

Le maggiori dimensioni dell'asse a e c e del volume della cella elementare della whewellite di cavità risultano linearmente correlati al contenuto di potassio, ma lo stesso elemento mostra una correlazione negativa con l'asse b (fig. 4.13).

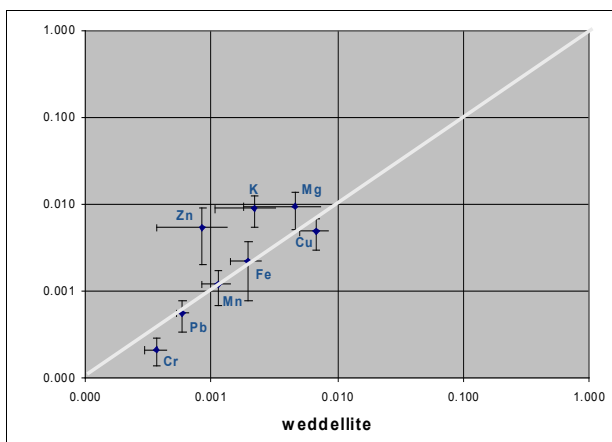
Nessuna correlazione significativa è emersa con gli altri elementi.

Nei calcoli di tipo misto (tipo 4 e 9) l'associazione del minerale principale (di solito ossalato) con un'altra fase mineralogica, altera la distribuzione degli elementi (figg. 4.14, 4.15).

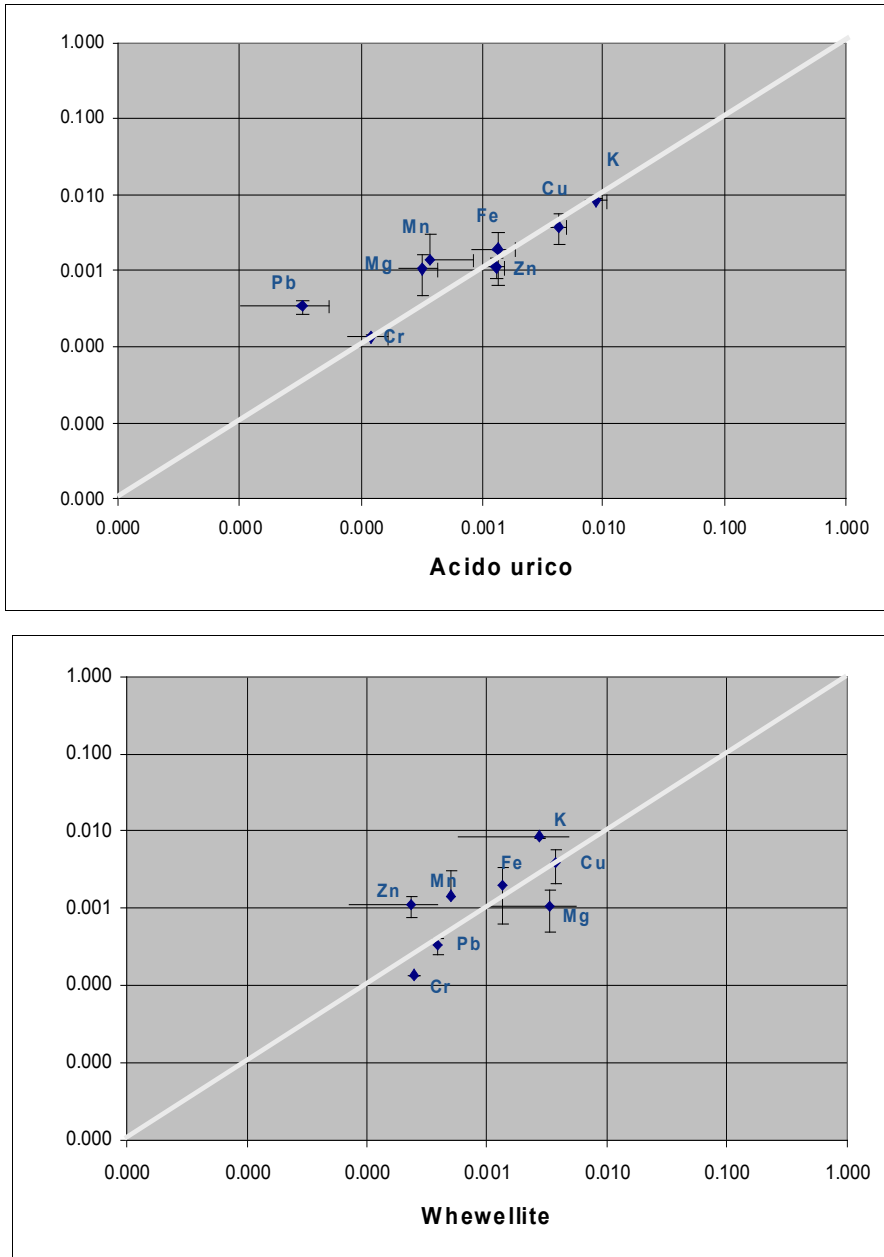




**Figura 4.13** Correlazione tra il contenuto di K in diversi calcoli di whewellite ed i parametri di cella  
*Comparison between potassium content in different whewellite kidney stones and whewellite unit cell dimension*



**Figura 4.14** Distribuzione degli elementi chimici nella weddellite (calcolo tipo 3) vs. weddellite+idrossapatite (calcolo tipo4)  
*Weddellite element distribution (kidney stones type 3) vs. weddellite+hydroxyapatite element distribution (kidney stones type 4)*



**Figura 4.15** Distribuzione degli elementi chimici nei calcoli misti di acido urico+whewellite (calcolo tipo 9) vs. l'acido urico (calcolo tipo 8) e vs. la whewellite  
*Element distribution in uric acid+whewellite kidney stones (type 9) vs. acid uric element distribution (kidney stones type 8) and whewellite element distribution*

## CONFRONTO DEL CONTENUTO DI ELEMENTI IN TRACCE CON PRECEDENTI STUDI

Non è stato facile confrontare le concentrazioni calcolate con dati disponibili in letteratura, in quanto spesso i risultati si riferiscono ad un intero gruppo di calcoli renali senza alcuna classificazione tipologica o a gruppi ristretti di calcoli [Al-Fawaaz 2006; Jhaumeer-L & Subratty 1999; Joost & Tessadri 1985; Ohta 1957; Wandt et al. 1988].

Si è reso necessario, quindi, calcolare la media della concentrazione di ogni elemento, senza distinzione della tipologia di calcolo analizzata. Sono stati presi in esame studi più recenti che indicavano i risultati in percentuale in peso (tab. 4.4).

Elemento	Concentrazione w%							
	Basilicata (n.48)		Giordania (n.110) Abboud 2008		Nord Giordania (n.35) Al-Fawaaz 2006		Mauritius (n.12) Jhaumeer-L & Subratty 1999	
<b>Ca</b>	media	17.234	20.33	60.88	16.13			
	range	2.64-26.77	6.8-38.25	24.7-88.8	0.16-32.81			
<b>K</b>	media	0.902	0.9	1.33	0.217			
	range	0.14-2.14	0.002-1.57	0.19-3.02	0.03-0.56			
<b>Mg</b>	media	1.632	3.08	1.47	0.84			
	range	0.05-9.63	0.009-6.95	0.39-2.83	0.0004-4.6			
<b>Fe</b>	media	0.262	1.17	1.094	0.67			
	range	0.19-0.42	0.09-3.85	0.17-2.05	0.001-5.23			
<b>Zn</b>	media	0.448	0.7	0.34	0.132			
	range	0.02-1.40	0.005-1.56	0.1-0.58	0.002-0.8			
<b>Cu</b>	media	0.574	0.19	0.285	0.0013			
	range	0.22-0.98	0.002-1.05	0.24-0.33				
<b>Mn</b>	media	0.119	0.029	0.13	0.07			
	range	0.06-0.20	0.005-0.06					
<b>Pb</b>	media	0.049						
	range	0.008-0.085						
<b>Cr</b>	media	0.031	0.146		0.0065			
	range	0.011-0.053	0.003-0.77		0.0015-0.017			

**Tabella 4.4 Confronto tra le quantità di elementi in tracce dosati in media nei calcoli della Basilicata e in altre aree geografiche del pianeta**

*Comparison between trace element concentration in Basilicata kidney stones and other world geographical areas*

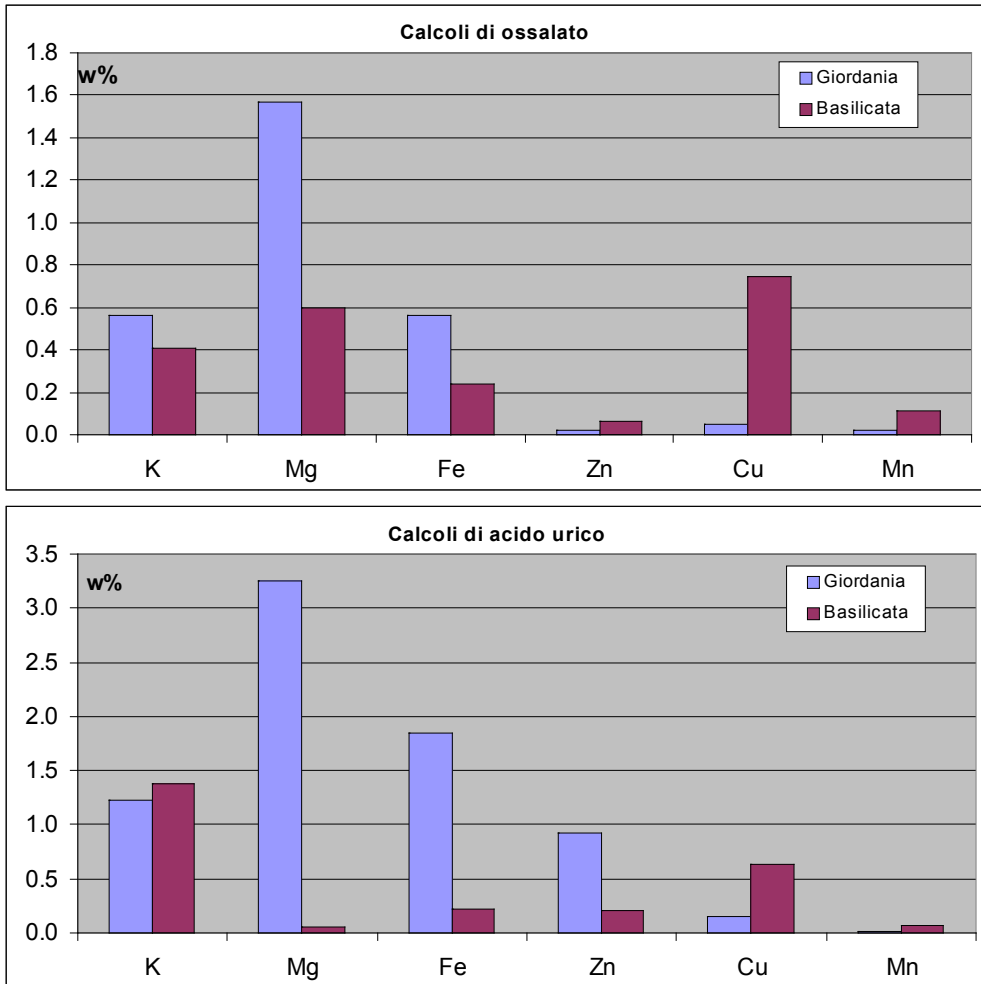
Considerando solo i valori medi è possibile osservare delle differenze nello scarso contenuto di Fe nei calcoli della Basilicata e le maggiori quantità di Cu.

Sulla base di uno dei pochi lavori che combina il dosaggio di elementi e differenziazione tipologica dei calcoli [Abboud, 2008], sono stati messi a confronto i risultati osservando delle differenze fra i calcoli lucani e quelli della Giordania, pur essendo comparabili in ordini di grandezza (fig. 4.16).

Sono inferiori le quantità di calcio riscontrate nei calcoli lucani di acido urico e del tipo 9, mentre sono più elevate le dosi di potassio nella struvite e nella cistina. Il magnesio è scarsamente presente nei calcoli di acido urico e la quantità di ferro è bassa in generale, mentre il manganese è sempre più abbondante.

Lo zinco è abbondante nei calcoli di tipo 3 e di tipo 4. In questi ultimi calcoli anche il rame è abbondante come pure nei calcoli di tipo 9.

Le quantità di cromo e di piombo non sono confrontabili in quanto segnalati come tracce ma non dosati nel lavoro di Abboud [2008].



**Figura 4.16** Confronto tra le quantità di elementi in tracce dosati in alcune tipologie di calcoli della Basilicata e quelli di letteratura [Giordania, Abboud 2008]  
*Comparison between trace element concentration in some kind of kidney stones in Basilicata and kidney stones from previous studies*

### 4.3.2 Apporto degli elementi dalla catena alimentare

Il passo successivo è stato quello di valutare l'apporto di questi elementi in tracce attraverso la catena alimentare.

E' stato preso in considerazione il contenuto medio in elementi derivante da una dieta standard (DDI) [Parr et al. 1992 in WHO 1996] (tab. 4.5).

Daily dietary intakes(DDI) (mg)	
Al	4.5
B	1.6
Ba	0.3
Ca	760
Cl	5670
Cr	0.05
Cs	0.0088
Cu	1.5
F	1.5
Fe	13
K	2670
I	0.19
Li	0.038
Mg	300
Mn	3.1
Na	3510
Ni	0.15
P	1300
Pb	0.054
Rb	0.0022
Se	0.06
Sn	0.65
Sr	1.5
V	0.016
Zn	10

**Tabella 4.5** Quantitativi di elementi derivanti da una dieta standard [Parr et al. 1992 in WHO 1996]

*Amounts of element from daily diet*

Per poter confrontare le quantità di elementi riscontrate nei calcoli renali e quelli che, giornalmente, vengono introdotti nell'organismo umano, è stata eseguita la normalizzazione del valore di ogni elemento rispetto al valore del calcio, elemento più abbondante. E' stato dimostrato, inoltre, che la concentrazione di calcio in un mezzo inibisce l'assorbimento di Pb, Cd, Zn e Cr e perciò le concentrazioni di questi elementi in relazione con il calcio possono essere più significative che se prese in valore assoluto [Bowie & Thornton 1985].

Il contenuto degli elementi derivanti dalla dieta ( $Q_{(E)}$ ) sono stati rapportati alla quantità di calcio derivante giornalmente dal cibo e dalle acque ( $Q_{(Ca)}$ ) e confrontati con le dosi calcolate nel presente studio anch'esse normalizzate rispetto al quantitativo di calcio dosato.

$$Q_{(E)}/Q_{(Ca)}$$

Il confronto è stato fatto sulla base delle due grandi categorie di calcoli e tra i soli calcoli di ossalato (fig. 4.17).

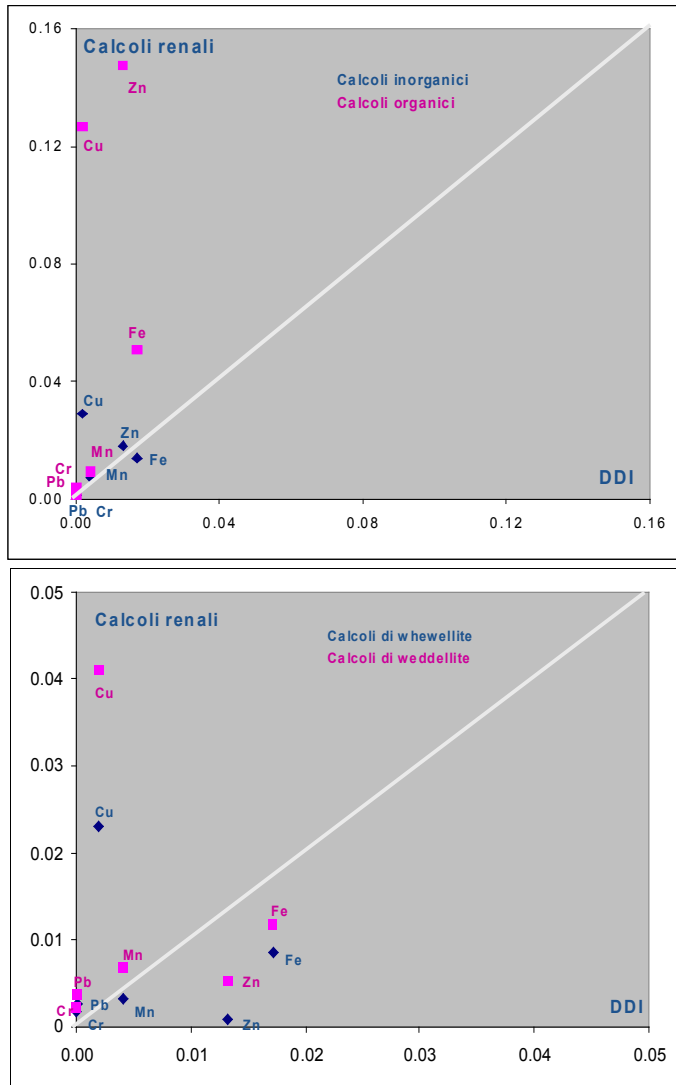
Rispetto all'apporto medio di elementi in tracce derivante da una dieta

standard (diagonale nel diagramma), si osserva che alcuni elementi sono presenti nell'organismo in quantitativi superiori, accumulati in calcoli renali.

I calcoli organici accumulano quantitativi superiori di Cu, Zn e Fe.

Tra i calcoli di ossalato, weddellite e whewellite, mostrano tenori maggiori di Cu.

Per tutti i tipi di calcoli, tenori di poco al di sopra dell'apporto medio sono registrati per Mn, Pb e Cr.

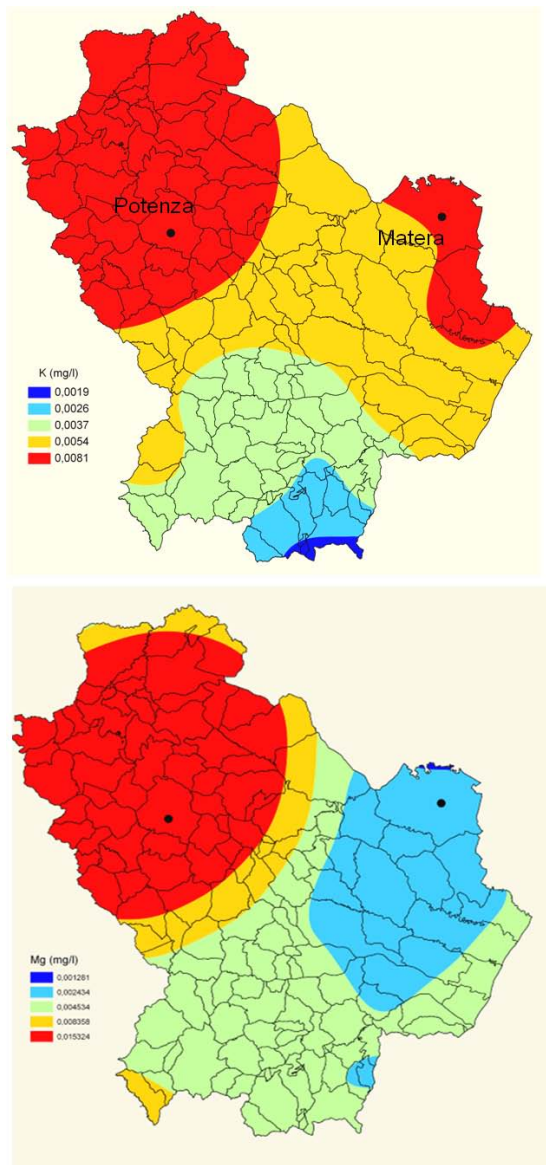


**Figura 4.17** Correlazione tra le dosi di elementi in tracce accumulate nei calcoli renali e quelle trasferite dalla dieta (DDI)

*Comparison between trace elements in kidney stones and those transferred by daily dietary*

Assimilando la zona di provenienza del calcolo con quella di residenza del paziente, è stato possibile cartografare le quantità di elementi in tracce riscontrate.

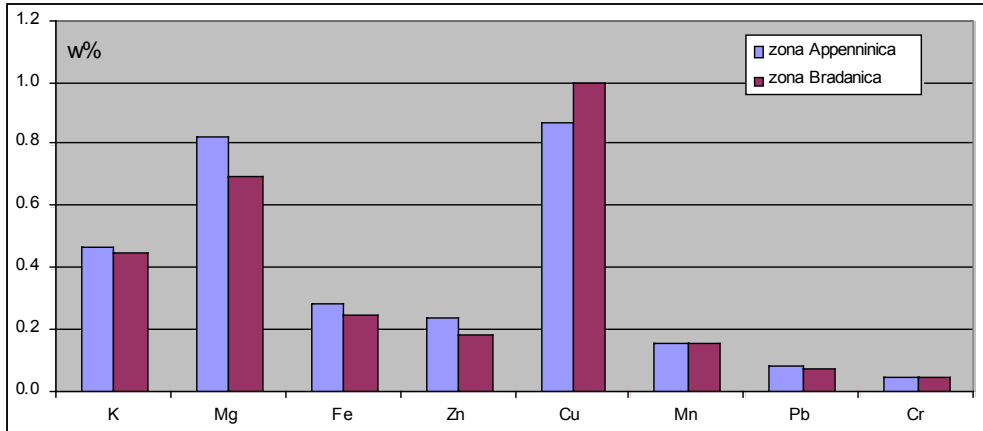
La distribuzione geografica di alcuni degli elementi in tracce evidenzia delle aree a maggior concentrazione (es. K e Mg, fig. 4.18).



**Figura 4.18** Distribuzione areale del contenuto di K e Mg nei calcoli analizzati  
*Geographic distribution of K and Mg concentration in analyzed kidney stones*

Ciascuna area risente della tipologia di calcolo prevalente che a sua volta determina il diverso accumulo degli elementi.

Dalla distribuzione geografica degli elementi contenuti nei soli calcoli di weddellite (tipologia più diffusa anche geograficamente) si osservano più alti valori di K, Mg, Fe e Zn nell'area appenninica.



**Figura 4.19** Confronto fra la distribuzione del contenuto in elementi in tracce in calcoli di weddellite variamente distribuiti tra i comuni di dominio Appenninico e della Fossa Bradanica  
*Comparison between trace element content in weddellite kidney stones in Apennine area and Bradanic Foredeep zone*



#### 4.4 DISCUSSIONE

Alla luce dei risultati ottenuti appare chiaro che tutte le tipologie di calcoli contengono svariati elementi in tracce. La tipologia di calcolo però influisce sulle quantità degli elementi.

Il Ca risulta essere l'elemento dominante ed influenzante la distribuzione degli elementi in tracce.

La diversa distribuzione degli elementi in tracce tra i calcoli inorganici ed organici è legata alla maggiore affinità del Ca con alcuni ioni (specie bivalenti, es. Mg) in termini di carica e dimensioni, che favorisce le sostituzioni cationiche nella struttura cristallina [Khattech & Jemal 1997].

Rispetto a quanto detto, lo Zn presenta un comportamento anomalo, andando ad accumularsi maggiormente nei calcoli organici.

Questo risultato è in disaccordo con molti studi precedenti [Bazin et al. 2007; Hesse et al. 1977; Joost & Tessadri 1987; Levinson et al. 1978] ma concorde rispetto al comportamento dello Zn tra i soli calcoli inorganici.

Nei calcoli di fosfato di Ca, infatti, si rilevano maggiori contenuti di Zn se confrontati con quelli riscontrati nei calcoli di ossalato. La maggiore affinità dello Zn con il P spiegherebbe questo risultato [King 1971; Sutor 1969; Schneider et al. 1970; Wandt & Underhill 1988], infatti, i tenori di Zn nei calcoli misti di weddellite ed idrossapatite superano quelli riscontrati nei calcoli formati esclusivamente da weddellite.

Il maggior contenuto di Zn nella weddellite piuttosto che nella whewellite può essere legato al fatto che la weddellite è la prima fase idrata che si forma durante il processo di cristallizzazione e solo successivamente, si trasforma in whewellite. Probabilmente, durante tale processo nella nuova struttura viene ritenuto il solo K.

Lo Zn è un elemento molto comune nel corpo umano, molto più del Cu [Joost & Tessadri 1987]. E' interessante osservare come le quantità di rame immagazzinato nei calcoli siano maggiori rispetto allo zinco, specie tra i calcoli di ossalato.

Lo Zn è da molti considerato un inibitore della cristallizzazione [Atakan et al. 2007; Cohanin & Yendt 1975; Rangnekar & Gaur 1993] e i bassi valori osservati in alcune tipologie di calcoli, possono far pensare ad un suo effetto inibitore nei confronti della litiasi ossalo calcica [Grases et al. 1989; Meyer & Thomas 1982; Sutor 1969; Thomas 1984].

Anche il contenuto di Fe, più abbondante tra i calcoli inorganici, non si accorda con studi precedenti. Al Fe attribuiscono il ruolo di inibitore per gli ossalati ed è per questo che dovrebbe essere presente in piccole quantità nei calcoli di

whewellite e weddellite [Elliot & Ribeiro 1973]. Non ci sono, comunque, molti studi a riguardo.

La maggiore presenza di piombo nei calcoli inorganici e la sua quasi totale assenza in quelli di acido urico e cistina, trova riscontro in altri studi [Joost & Tessadri 1987; Levinson et al. 1978].

L'escrezione del Pb avviene prevalentemente per via renale, ma una parte viene anche escreta tramite la bile e perciò si ritrova nelle feci. Questa percentuale di Pb rappresenta la parte che non è stata assorbita durante il passaggio nel tratto gastro-intestinale [Alessio & Foà 1983; Goyer 1988], pertanto i valori più alti di Pb sono l'evidenza che è stato assorbito dall'organismo in quantità sicuramente superiori rispetto a quelle riscontrate nei calcoli renali.

La presenza di questo elemento è fortemente correlata a fenomeni di inquinamento ambientale e potrebbe risultare di grande interesse il dosaggio del Pb in altri calcoli provenienti dalle stesse aree geografiche. Bazin et al. [2007] osservano una diminuzione della quantità di Pb nei calcoli confrontando risultati recenti con altri precedentemente ottenuti nella stessa area e correlandola ad un calo del Pb disponibile nell'ambiente naturale.

Le quantità variabili di tutti gli elementi sono attribuite ad una dieta (cibo e acque) non corretta ma anche, in ambienti inquinati, all'ingestione involontaria attraverso la catena alimentare [Abboud 2008; Atakan et al. 2007; Bazin et al. 2007; Chandrajith et al. 2006; Joost et al. 1987; Levinson et al. 1978; Turgut et al. 2008].

Elementi tossici quali il Pb ed il Cr (l'80% del quantitativo assorbito viene escreto nell'urine) possono essere scatenanti di patologie a carico della papilla renale, motivo per cui si osservano dei valori, per entrambi, leggermente più elevati nei calcoli di whewellite papillari.

Gli altri elementi si accumulano maggiormente nelle urine ed il maggiore tempo di contatto tra i calcoli di whewellite in cavità rispetto a quelli papillari ne spiegherebbe il maggior accumulo.

Il Ca risulta essere il catione più abbondante in quasi tutti i tipi di calcoli. E' ovvio che il contenuto di calcio dipenda dal tipo di cibo (latte e derivati, uova) ed acqua (dura) che viene ingerita [Abboud 2007; Robertson et al. 1980; Sobhi 2006].

La presenza di Mg nei calcoli è di solito un indicatore dell'incremento della sua concentrazione nel corpo umano [Deeming & Webu 1977]. Molti cibi e le acque dure sono responsabili del contenuto di Mg come anche alcuni farmaci e droghe.

Anche le concentrazioni di potassio sono riconducibili alle abitudini alimentari.

La presenza di alcuni metalli (Fe, Cu, Mg e Mn) nella struttura dei calcoli è di solito molto bassa, ma nei campioni analizzati se ne rileva un contenuto apprezzabile. La carne ed i fagioli sono i maggiori responsabili dell'ingerimento di Fe. Vegetali, carne, latte e farina incrementano il contenuto in Cu. Il Mn deriva dal consumo di fagioli, thè e vegetali.

Dai risultati è emerso che alcuni elementi hanno una concentrazione di molto superiore all'apporto medio derivante dalla dieta; si può presupporre, quindi, che questi elementi abbiano un'altra origine e che abbiano un ruolo importante nel processo di biomineralizzazione, in associazione sia con la parte inorganica e sia con quella organica [Al-Kinani et al. 1984; Durak et al. 1988].

Studi di maggiore approfondimento in alcune aree ristrette potrebbero consentire di individuare eventuali fattori di correlazione tra il sistema ambiente e gli alimenti e di individuare, quindi, delle aree a rischio ambientale per la nefrolitiasi.

#### 4.5 BIBLIOGRAFIA

- Abboud IA (2007). Mineralogy and chemistry of urinary stones: patients from North Jordan. *Environ Geochem Health* 30: 445-463.
- Abboud IA (2008). Concentration effect of trace metals in Jordanian patients of urinary calculi. *Environ Geochem Health* 30: 11-20.
- Alessio L & Foà V (1983). Lead. In: Human biological monitoring of industrial chemicals series. Ed. CEC/EUR 8476 EN, pp: 105-132.
- Al-Fawaaz MM (2006). Diagnostic of environmental effects in stone formation and traces on human health – northeastern of Jordan, study in Medical Geochemistry. M. Sc. Thesis, Al al-Bayt University, Jordan, p124
- Al-Kinani AT, Watt DE & East BW (1984). Minor and trace element analysis of gallstones. *Analyst* 109: 365-368.
- Atakan IH, Kaplan M, Seren G, Aktoz T, Gül H & Inci O (2007). Serum, urinary and stone zinc, iron, magnesium and copper levels in idiopathic calcium oxalate stone patients. *Int Urol Nephrol* 39: 351-356.
- Avtsin AP (1991). Microelement use of human, Medicine, Moskow p.496.
- Bazin D, Chevallier P, Matzen G, Jungers P & Daudon M (2007). Heavy elements in urinary stones. *Urol Res* 35: 179-184.
- Bowie SHU & Thornton I (1985). Environmental geochemistry and health. Report to the royal society's British. National Committee for problems of the environment. Reidel publishing company, Boston.
- Chandrajith R, Wijewardana G, Dissanayake CB & Abeygunasekara A (2006). Biomineralogy of human urinary calculi (kidney stones) from some geographic regions of Sri Lanka. *Environ Geochem Health* 28: 393-399.
- Cohan M & Yendt ER (1975). The effects of thiazides on serum and urinary zinc in patients with renal calculi. *Johns Hopkins Med J* 136: 137-141.
- Deeming SP & Wepu CW (1977). Evaluation of hair analysis for determination of zinc status using rats. *The American J Clinical Nutrition* 30: 2047-2052.
- Durak I, Yasar A, Yurtarslani Z, Akpoyraz M & Tasman S (1988). Analysis of magnesium and trace elements in urinary calculi by atomic absorption spectrophotometry. *British J of urology* 62: 203-205.
- Durak I, Kilic Z, Sahin A & Akpoyraz M (1992). Analysis of calcium, iron, copper and zinc contents of nucleus and crust parts of urinary calculi. *Urol Res* 20: 23.
- Elliot JS & Ribeiro ME (1973). The urinary excretion of trace metals in patients with calcium oxalate urinary stone. *Invest Urol* 10: 253-255.
- Goyer RA (1988). Lead. In: Handbook on toxicity of inorganic compounds. Ed. Seiler HG et al., Dekker Publ., New York, pp: 359-382.

- Grases F, Genestar C & Millán A (1989). The influence of some metallic ions and their complexes on the kinetics of crystal growth of calcium oxalate. *J Crystal Growth* 94:507-512.
- Hesse A, Dietze HJ, Berg W & Hienzsch E (1977). Mass spectrometric trace element analysis of calcium oxalate uroliths. *Eur Urol* 3: 359-361.
- Jhaumeer-Laulloo S & Subratty AH (1999). Analysis of urinary calculi in Mauritius. *Science & Technology-Research J* 3: 87-93.
- Joost J & Tessadri R (1987). Trace element investigations in kidney stone patients. *Eur Urol* 13: 264-270.
- Khattech I & Jemal M (1997). A complete solid-solution exists between Ca and Sr in synthetic apatite. *Thermochim Acta* 298: 23.
- King J jr (1971). Currents in renal stones research. *Clinical Chemistry* 17: 971-982.
- Levinson AA, Nosal M, Davidman M, Prien EL sr, Prien EL jr & Stevenson RG (1978). Trace elements in kidney stones from three areas in the United States. *Investigative urology* 15: 270-274.
- Meyer JL & Angino EE (1977). The role of trace metals in calcium urolithiasis. *Investigative Urology* 14: 347-350.
- Meyer JL & Thomas WC (1982). Trace metal-citric acid complexes as inhibitors of calcification and crystal growth. II. Effects of Fe(III), Cr(III) and Al(III) complexes on calcium oxalate crystal growth. *J Urol* 128: 1376-1378.
- Ohta N (1957). Studies on inorganic constituents in biological materials on the inorganic constituents in human stones. *Bullettino f the Chemical Society of Japan* 30: 833-841.
- Oka T, Yoshioka T, Koide T, Takaha M & Sonoda T (1987). Role of magnesium in the growth of calcium oxalate monohydrate and calcium oxalate dihydrate crystals. *Urol Int* 42: 89.
- Paluszkiwicz C, Gałka, M, Kwiatek W, Parczewski A & Walas S (1997). Renal stone studies using vibrational spectroscopy and trace element analysis. *Biospectroscopy* 3: 403-407
- Parr RM, Crawley H, Abdulla M, Iyengar GV & Kumpulainan J (1992). Human dietary intakes of trace elements: a global literature survey mainly for the period 1970-1991. International Atomic Energy Agency, Report NAHRES-12, Vienna: pp. 109.
- Perk H, Ahmet Serel T, Koşar A, Deniz N & Sayin A (2002). Analysis of the trace element contents of inner nucleus and outer crust parts of urinary calculi. *Urologia Internationalis* 68: 286-290.
- Pouls M & Payne M (2006). Oral chelation and nutritional replacement

therapy for heavy metal toxicity and cardiovascular conditions. Manuscript (written by Extreme health), publishing by the University of Michigan. [www.extremehealthusa.com](http://www.extremehealthusa.com)

- Rangnekar GV & Gaur MS (1993). Serum and urinary zinc levels in urolithiasis. *British Journal of Urology* 71: 527-529.
- Robertson WG, Peacock M, Heyburn P & Hanes F (1980). Epidemiological risk factors in calcium stone disease. *Scandinavian Journal of urology and nephrology* 53: 15-28.
- Schneider HJ, Straube G & Anke M (1970). Zink in harnsteinen. *Z Urol* 63: 895-900.
- Sutor DJ (1969). Growth studies of calcium oxalate in the presence of various ions and compounds. *BrJ Urol* 41:171-178.
- Thomas WC (1984). Recently identified inhibitors of crystal growth in urine of calculous patients; in Ryall R, Gwynne J, Rockis B, Marshall W, Fynlayson B (eds.): *Urinary Stones*. Melbourne. Churchill Livingstone, p 173.
- Turgut M, Unal I, Berber A, Ali Demir T, Mutlu F & Aydal Yüksel (2008). The concentration of Zn, Mg and Mn in calcium oxalate monohydrate stones appears to interfere with their fragility in ESWL therapy. *Urol Res* 36: 31-38.
- Wandt MAE & Underhill LG (1988). Covariance biplot analysis of trace element concentrations in urinary stones. *British J Urology* 61: 474-481.
- WHO (1996). Trace elements in human nutrition and health. World Health Organization, Geneva. Pp. 343.
- Wu JG, Zhou XS, Xu Z, Shen T & Xu YZ (1997). A spectroscopic investigation of the formation mechanism of pigment gallstones. *Biospectroscopy* 3: 381-391.
- Zhou XS, Shen GR & Wu JG (1997). A spectroscopic study of pigment gallstones in China. *Biospectroscopy* 3: 371-380.