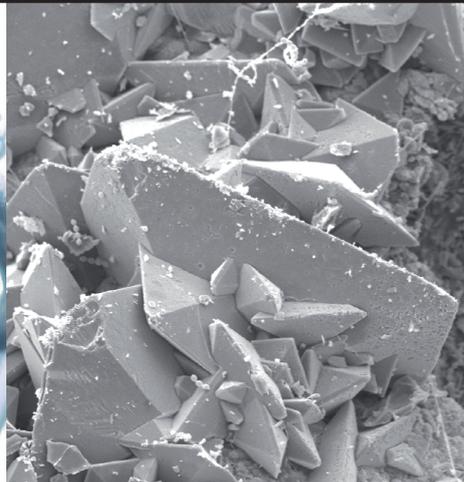
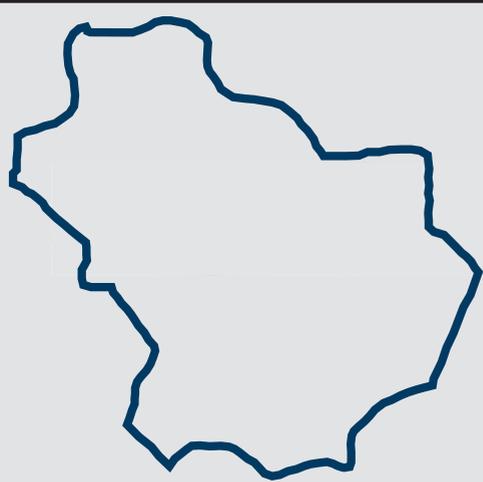




LE MIGLIORI TESI DI DOTTORATO
SULLA BASILICATA

MARIA LUGIA GIANNOSI

STUDIO DI BIOMINERALI PATOLOGICI PRESENTI NEL CORPO UMANO: CARATTERI COMPOSIZIONALI ED INFLUENZA AMBIENTALE NEL CASO STUDIO DELLA BASILICATA



CONSIGLIO REGIONALE DELLA BASILICATA

CONSIGLIO REGIONALE DELLA BASILICATA

DIPARTIMENTO SEGRETERIA
GENERALE DEL CONSIGLIO

Comitato di direzione:

Vincenzo Santobirico
Franco Carmelo Mattia
Francesco Mollica
Mariano Pici
Luigi Carmine Scaglione

Struttura delle attività della informazione e comunicazione

Direttore responsabile:

Maurizio Vinci

Redazione:

Nicoletta Altomonte
Rosaria Nella
Domenico Toriello

Segreteria di redazione:

Maria Verraastro

Direzione, Redazione, Segreteria:

Via Vincenzo Verraastro, 6
85100 Potenza
Tel. + 39.0971.447079
Fax. +39.0971.447182

Impaginazione:

Luciano Colucci

Foto:

*Le immagini di copertina e presenti
all'interno sono a cura dell'autrice*



Maria Luigia Giannossi

STUDIO DI BIOMINERALI PATOLOGICI
PRESENTI NEL CORPO UMANO:
CARATTERI COMPOSIZIONALI ED
INFLUENZA AMBIENTALE
NEL CASO STUDIO DELLA BASILICATA



CONSIGLIO REGIONALE DELLA BASILICATA

INDICE

PRESENTAZIONE	9
CAPITOLO 1. INTRODUZIONE GENERALE	11
1.1 L'influenza ambientale sulla salute umana	13
1.2 Il processo di mineralizzazione dell'organismo e le patologie associate	16
1.3 I biominerali patologici nella nefrolitiasi	19
1.3.1 Tipo di calcoli renali	21
1.3.2 Le fasi del processo di cristallizzazione	30
<i>Nucleazione</i>	
<i>Accrescimento cristallino</i>	
<i>Aggregazione</i>	
1.3.3 I fattori determinanti il processo di biomineralizzazione	36
<i>Composizione della soluzione urinaria e morfo-anatomia del rene</i>	
<i>Fattori demografici</i>	
<i>Fattori ambientali e comportamentali</i>	
1.4 Bibliografia	46
CAPITOLO 2. L'INFLUENZA AMBIENTALE SULLA NEFROLITIASI IN BASILICATA	58
2.1 Epidemiologia della nefrolitiasi	59
2.1.1 Cenni introduttivi sullo studio epidemiologico	61
2.2 Metodi	64
2.2.1 Data base e questionario epidemiologico	64
2.2.2 La statistica applicata alla epidemiologia	72
2.3 Risultati	78
2.3.1 La prevalenza di nefrolitiasi in Basilicata	78
2.3.2 I fattori di rischio della nefrolitiasi in Basilicata	81
<i>Fattori demografici</i>	
<i>Fattori ambientali e comportamentali</i>	
2.4 Discussione	94
2.5 Bibliografia	101
CAPITOLO 3. COMPOSIZIONE DEI CALCOLI RENALI DEI RESIDENTI IN BASILICATA	107
3.1 Introduzione	109
3.2 Materiali e metodi	111
3.2.1 La raccolta dei calcoli renali	113

3.2.2	Le tecniche di caratterizzazione dei calcoli renali	113
	<i>La microscopia ottica</i>	
	<i>La diffrazione di raggi X</i>	
	<i>L'analisi microscopica di sezioni sottili</i>	
	<i>La microscopia elettronica a scansione e microanalisi</i>	
3.3	Risultati	121
3.3.1	Composizione dei calcoli renali	121
	<i>L'analisi mineralogica</i>	
	<i>L'analisi petro-morfo tessiturale</i>	
	<i>I nuclei di accrescimento</i>	
3.3.2	Classificazione dei calcoli renali	152
3.3.3	Relazione tra la classificazione morfo-composizionale ed i fattori etiologici dei calcoli renali	158
3.3.4	Prevalenza e distribuzione geografica dei calcoli renali	160
3.4	Discussione	164
3.5	Bibliografia	172
CAPITOLO 4. GLI ELEMENTI IN TRACCE NEI CALCOLI RENALI		177
4.1	Introduzione	179
4.2	Materiali e metodi	180
	<i>La spettrometria ottica (ICP)</i>	
	<i>La spettrofotometria in assorbimento atomico (AAS)</i>	
4.3	Risultati	183
4.3.1	Contenuto di elementi in tracce nei calcoli	183
	<i>Il calcio e gli altri elementi</i>	
	<i>La distribuzione degli elementi nelle fasi mineralogiche</i>	
	<i>Confronto del contenuto di elementi in tracce con precedenti studi</i>	
4.3.2	Apporto degli elementi dalla catena alimentare	198
4.4	Discussione	202
4.5	Bibliografia	205
CAPITOLO 5. CONCLUSIONI		209
	Questioni aperte	213
SOMMARIO ESTESO		215
APPENDICE		225
	Schede identificative dei calcoli renali	227

PRESENTAZIONE

La tesi di dottorato di Maria Luigia Giannossi rappresenta un esempio concreto di studio multidisciplinare che coniuga le conoscenze mineralogiche e chimiche e la pratica medica di salvaguardia della salute umana, condotta in sinergia con i medici dell'Azienda Ospedaliera San Carlo di Potenza.

Si tratta di uno studio sui fattori ambientali che influenzano lo sviluppo di calcoli renali in pazienti residenti in Basilicata, approfondendo lo studio chimico-mineralogico e petro-morfologico di questi biominerali.

L'attività scientifica condotta rappresenta un primo esempio di studio a livello nazionale sulla relazione tra i calcoli renali ed i fattori ambientali rapportati ad una scala regionale.

Il mirato studio epidemiologico della calcolosi renale in regione ha permesso di fotografare la situazione, individuando delle aree a maggiore prevalenza per la suddetta patologia.

Le analisi eseguite con appropriate tecniche integrate su un numero elevato di calcoli, ha consentito di raccogliere utili informazioni per individuare le tipologie di calcolo prevalenti in Basilicata e definirne i relativi fattori di rischio geo-ambientali.

L'intuizione della dottoressa Giannossi di integrare diverse tecniche e metodologie ha consentito di chiarire alcuni aspetti del processo di nucleazione e crescita dei calcoli renali e di riconoscere una nuova tipologia di calcoli non ancora contemplata.

Le informazioni acquisite su ogni calcolo sono state prontamente rese fruibili ai medici ai fini di programmare appropriati interventi di cura e prevenzione della patologia

La chiarezza espositiva, l'uso appropriato della terminologia medica e, non ultima, una elevata qualità grafica rendono il lavoro degno di nota: ne danno conferma l'ottimo livello dell'organizzazione strutturale, l'approfondimento dei vari aspetti dell'argomento trattato, gli importanti risultati raggiunti.

La tesi potrebbe diventare un valido manuale con le linee guida per una corretta analisi dei calcoli, utile sia ai medici in fase di cura della patologia che come prodotto informativo da distribuire ai pazienti affetti da calcolosi renale ai fini di divulgazione della conoscenza.

Vincenzo SANTOCHIRICO
Presidente del Consiglio regionale della Basilicata

CAPITOLO 1

INTRODUZIONE

1.1 L'INFLUENZA DEI FATTORI GEO-AMBIENTALI SULLA SALUTE UMANA

Le scienze della terra sembrano essere distanti dalla salute umana ma se consideriamo che rocce, minerali ed acque superficiali costituiscono la gran parte del pianeta con cui interagiamo e contengono la maggioranza degli elementi chimici che assumiamo attraverso il cibo, l'acqua e l'aria, ne comprendiamo l'importanza.

Le masse rocciose degradano per erosione fisica e per attacco chimico e vanno a costituire i suoli sui quali interagiscono la flora e la fauna.

L'acqua potabile viaggia attraverso il suolo ed il sottosuolo come parte del ciclo idrologico e la maggioranza della polvere e dei gas contenuti nell'atmosfera sono di origine "geologica" e raggiungono l'uomo attraverso la catena alimentare e/o l'inalazione.

L'eruzione vulcanica del Monte Pinatubo è uno dei tanti esempi degli effetti drammatici dell'influenza geologica sull'uomo. In soli due giorni, nel giugno del 1991, il vulcano Pinatubo ha eruttato 10 bilioni di tonnellate di magma e 20 milioni di tonnellate di SO_2 ; i gas prodotti hanno influenzato il clima mondiale per tre anni. Questo singolo evento vulcanico ha introdotto nell'ambiente molti elementi tossici (come arsenico, berillio, cadmio, mercurio, etc.) con effetti nocivi evidenti. Ma molti altri elementi furono eruttati con non ben noti effetti biologici.

Considerato che 60 vulcani sono in eruzione contemporaneamente sulla Terra, si può solo immaginare i quantitativi di elementi chimici rilasciati nell'ambiente.

Varie culture antiche fanno riferimento alla relazione ambiente e salute. In molti casi i problemi di salute sono legati all'ambiente di lavoro ma una stretta relazione con l'ambiente naturale era già stata presa in considerazione. Diversi test della medicina cinese datati al terzo secolo A.C. contengono riferimenti alla relazione ambiente e salute.

Durante le dinastie Song (1000 A.C.) e Ming (XIV-XVII secolo D.C.) furono riconosciuti problemi legati alla frantumazione di alcuni tipi di roccia e sintomi di avvelenamento da piombo in ambiente di lavoro.

La gotta, per esempio, risultato di una carenza di iodio, era ampiamente presente nell'antica Cina, Grecia ed Egitto, come anche tra gli Inca nel Perù. Il fatto che questa condizione fosse poi accompagnata da un cambiamento delle abitudini alimentari, indica un certo grado di conoscenza del problema.

Già 1500 anni fa, erano note alcune relazioni tra qualità delle acque e salute umana:

"Whoever wishes to investigate medicine properly, should proceed thus.... We must

also consider the quality of the waters, for as they differ from one another in taste and weight, so also do they differ much in their quality”

(Ippocrate, 460-377 A.C.)

E così Ippocrate diceva sulle acque: «Non è possibile che un’acqua assomigli a un’altra; alcune sono dolci, altre salate e astringenti, altre ancora derivano da sorgenti calde». Ma egli non si limitava a concetti generali, perché scendeva nel particolare rilevando le varie qualità delle singole acque e poi facendone un paragone con le popolazioni che ne facevano uso continuato. Pessime, a suo dire, sono le acque paludose («di serbatoio e di stagno») che apportano agli utenti «milza ingrossata e congesta e ventre duro, piano e caldo». Né di eccessivo valore sono le acque ricche di minerali («ferro, rame, argento, oro, solfo o allume, o bitume o nitro»), come enunciato nel suo trattato *Dell’aere, dell’acqua e de’ luoghi* [sec. V / IV a.C.].

Una descrizione successiva del legame tra geologia e salute è raccontata da Marco Polo; nel 1270, attraversando il grande deserto del Lop scrisse:

“Vero è che li viandanti che passano de lì non ardiscono andare a que’ monti con altre bestie che di quella contrada, perché vi nasce un’erba velenosa, di sorte che, se le bestie ne mangiano, perdono l’unghie, ma quelle di detta contrada conoscono l’erba e la schifano di mangiare”

(Il Milione, cap. XLIX)

La patologia degli animali osservata da Marco Polo è simile ad una condizione che noi oggi conosciamo essere causata dal consumo di piante in cui si è accumulato il selenio. Questo racconto di viaggio può essere definito come il primo rapporto sulla sua tossicità.

Problemi di salute risultanti dall’esposizione ai metalli, sono riconosciuti in gran parte del mondo. L’uso comune di questi metalli anche nell’antichità è testimoniato dai loro effetti tossici. Profili psicologici di imperatori romani vissuti tra il 50 ed il 250 A.C. suggeriscono che la maggioranza soffriva di avvelenamento da piombo, usato per conservare frutta e verdura ed aggiunto al vino per fermarne la fermentazione o solo per colorarlo [Nriagu 1983].

La rivoluzione industriale in Europa ed nel nord America ha esposto molti

lavoratori ad alti livelli di elementi chimici e composti con cui non erano mai entrati in contatto.

Lo sviluppo delle moderne scienze geologiche associate all'incremento di tecniche analitiche sempre più potenti, ha consentito di determinare la natura e l'abbondanza di numerosi elementi, presenti soprattutto in tracce, nelle rocce e nei suoli. Le scienze mediche hanno fornito i dati clinici per comprendere le conseguenze sull'uomo e sugli animali di una eccessiva esposizione agli elementi presenti nell'ambiente.

Per citare una tra le tante scoperte nella geologia medica, dobbiamo andare in Norvegia. Per molto tempo i medici norvegesi riscontrarono una forma particolare di malattia delle ossa (osteomalacia) tra gli animali domestici di un certo distretto. Cercarono di curarla somministrando ossa frantumate al cibo degli animali malati. Iniziarono a sospettare che la malattia derivasse dal consumo di una pianta diffusa in quella zona, detta *Granum ossifragum* (la pianta che frantuma le ossa). Cento anni dopo, il geologo J.H.L. Vogt studiò questa pratica. Con sorpresa ritrovò scarsa quantità di apatite nelle rocce del luogo e giunse alla conclusione che era la carenza di fosforo la causa della osteomalacia.

Una volta determinata la causa della malattia, divenne facile capire che per prevenirla era sufficiente aggiungere del fertilizzante ricco in fosforo al suolo [Låg 1990].

Per alcune importanti malattie le cause sono quasi o del tutto sconosciute e le cure ed i controlli, incerti. Quando l'incidenza o la prevalenza di queste malattie vengono inserite su supporti cartografici, si osservano delle differenze da luogo a luogo; differenze che non possono essere sempre giustificate da diverse caratteristiche genetiche, sociali o dietetiche.

L'influenza geo-ambientale sembra essere a questo punto coinvolta in queste malattie ed il ruolo del "geologo" appare quanto mai indispensabile. Se si riscontra una associazione positiva in un'area, allora si può ipotizzare che si rinvenga la medesima associazione anche in aree geologicamente simili.

Vista l'importanza dello studio geo-ambientale nelle problematiche connesse alla salute umana, in diverse parti del mondo si sono recentemente registrate numerose iniziative come congressi internazionali, workshop, associazionismo.

Queste iniziative sono accompagnate poi dalla comparsa nel panorama scientifico internazionale di diverse pubblicazioni su riviste dedicate come *Environmental Geochemistry and Health*, *Journal of Geochemical Exploration*, *International journal of environment and pollution*, *Journal of Environmental Monitoring*, o su edizioni speciali di riviste ampiamente note come *Applied Clay Science*, *Review in Mineralogy and Geochemistry*, *Elements*.

1.2 IL PROCESSO DI MINERALIZZAZIONE DELL'ORGANISMO E LE PATOLOGIE ASSOCIATE

Il processo mediante il quale gli organismi formano dei materiali composti, costituiti da macromolecole e minerali, con una grande varietà di proprietà adeguate alle funzioni che debbono svolgere, è definito biomineralizzazione [Boskey 1981; Dove et al. 2003; Lowenstam & Weiner 1989].

A fronte di 3600 specie di minerali, i biominerali conosciuti sono circa 80, appartenenti prevalentemente al gruppo dei fosfati (25%) e dei carbonati di calcio (50%) [Mann 2001; Menni Turbanti 2002; Simkiss & Wilbur 1989].

Il calcio risulta, quindi, essere l'elemento predominante in molti biominerali e ciò non deve sorprendere perché partecipa a molte delle funzioni fondamentali nel metabolismo cellulare [Lowenstam & Margulis 1980]. Da qui deriva anche la consuetudine di utilizzare il termine "calcificazioni" quando si parla di biomineralizzazioni che comportano la formazione di minerali di calcio, come fosfati, carbonati, ossalati e altri tipi.

Generalmente il 99% del calcio presente nell'organismo si incontra sotto forma di solido formato da cristalli di idrossapatite ed il restante 1% rimane nel sangue.

Nel sangue si concentra per il 50% come ione calcio libero, in un 10% legato a ioni (citrato, bicarbonato) ed il restante 40% legato a proteine (soprattutto albumina).

La concentrazione del calcio intracellulare è dell'ordine di 10^{-6} M contro il 10^{-3} M del liquido extracellulare [Manolagas & Olefski 1988].

Nel metabolismo del calcio intervengono tre ormoni (paratormone, calcitonina e vitamina D) e tre organi (ossa, reni ed intestino) [Costanzo 1998; Devlin 1986; Manolagas & Olefski 1988].

Per mantenere un equilibrio corretto nella omeostasi del calcio, la quantità di calcio espulsa dai reni deve essere uguale a quella assorbita realmente dall'intestino.

Nell'organismo umano, in condizioni fisiologiche e controllate, si formano delle calcificazione dette fisiologiche. La cosa che sorprende e che questo tipo di processo di cristallizzazione si verifica solo in alcuni specifici punti e che, una volta iniziato, questo non si propaghi in tutto l'organismo [LeGeros 1999; Skinner 1987].

Questo fa sì che lo studio dei fattori che regolano il processo di cristallizzazione e l'equilibrio che esiste tra i diversi fattori coinvolti, sia molto importante.

La modificazione di uno di questi fattori, potrebbe provocare l'alterazione del normale processo di cristallizzazione, dando luogo a tutta una serie di calcificazioni anomale.

Nelle biomineralizzazioni fisiologiche (ossa, dentina e smalto), si ritiene che la fase minerale consista, principalmente, di idrossapatite $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ [Bigi et

al. 1997; Gross & Berndt 2002; LeGeros 1999; Skinner 1987; Thompson et al. 2001], che è un minerale contenente gruppi OH⁻ con una specifica composizione e struttura.

Questa fase minerale si differenzia, per adattarsi alla natura e alla funzione (meccanica o fisiologica) del tessuto in cui si trova, per forma, dimensione, orientazione e concentrazione di elementi minori (area della superficie specifica, sostituzioni ioniche e proprietà di dissoluzione) [Daculsi et al. 1997; Skinner 2000; Wopenka et al. 2005].

In particolare, nel tessuto osseo, il processo di biomineralizzazione consiste nella deposizione ordinata di cristalli di fosfato di calcio su una matrice collagenosa, con un processo controllato biologicamente, e mineralizzazione extracellulare [Elliott 2002; Lowenstam & Weiner 1989; Veis 2003].

Alla luce di nuove ricerche e applicazione di nuove tecniche analitiche (diffrazione e spettroscopia) per lo studio della composizione mineralogica delle ossa, si è osservato che il minerale costituente le ossa è strutturalmente molto simile all'idrossapatite, ma ci sono differenze visibili nella forma e posizione dei picchi diffrattometrici e nel contenuto di elementi chimici se paragonata ad un minerale d'idrossapatite di natura geologica o sintetica [Elliott 2002; Wopenka & Pasteris 2005].

Alcuni elementi chimici, infatti, possono entrare a far parte della struttura minerale delle ossa e denti attraverso le sostituzioni ioniche, che si traducono in una modificazione delle caratteristiche cristallografiche e/o fisico-meccaniche del minerale (variazione della solubilità, della resistenza, della forma e della dimensione) che può dare origine a patologie umane.

La bibliografia scientifica è ricca di esempi a riguardo, come il caso della malattia Itai-Itai, riscontrata nel 1946 in una zona del Giappone, dovuta ad una intossicazione cronica da cadmio di origine alimentare, per la contaminazione industriale delle acque e dei cibi [Friberg et al. 1975; Murata et al. 1970; Tsuchiya 1978].

La patologia consiste in un danno renale ed alterazioni, secondarie al danno, del metabolismo del calcio e fosforo. In pratica, alcuni ioni Ca²⁺ delle ossa vengono sostituiti da ioni Cd²⁺, che hanno la stessa carica elettrica e circa le stesse dimensioni.

La conseguenza è che le ossa assumono, con il tempo, un aspetto poroso (perdita di densità dell'osso= osteoporosi) e possono fratturarsi [Miyahara et al. 1988; Staessen et al. 1999]. L'assunzione del cadmio da parte dei pazienti affetti da Itai-Itai fu stimata pari a circa 600 microgrammi al giorno, si consideri che il valore accettabile nell'acqua potabile per il cadmio è di 0.003mg/l [WHO 2006].

Altre sostituzioni cationiche, invece, possono essere favorevoli. Una maggiore

sostituzione dello ione calcio con il magnesio sembra prevenire le fratture e ha come risultato un significativo incremento della densità dell'osso [Bigi et al. 1992; Sojka & Weaver 1995; Vaananen 1991].

Tra le altre sostituzioni ioniche note nelle ossa e nei denti ricordiamo F^- , Cl^- , Na^+ , K^+ , Fe^{2+} , Zn^{2+} , Sr^{2+} , Mg^{2+} , citrati e carbonati [Elliott 2002; Gross & Berndt 2002; LeGeros 1991; Skinner 1987]. Anche alcuni elementi metallici e/o semi-metallici, come piombo [Pounds et al. 1991] o arsenico, possono essere incorporati nella struttura dell'apatite biologica con forti ripercussioni cliniche sulle ossa e sui denti, quali perdita di densità [Elliott 2002; Trueman & Tuross 2002].

Oltre ad un effetto sulle caratteristiche cristallografiche e/o fisico-meccaniche dei biominerali, gli elementi che vengono scambiati e successivamente incorporati nella struttura cristallina, si comportano come promotori e/o inibitori della crescita di cristalli di apatite, ma possono essere anche coinvolti, come inibitori e/o promotori, nella trasformazione di un fosfato di calcio in un altro [Boskey & Poster 1974; LeGeros 1991; LeGeros et al. 1995; Posner 1985].

Nel corpo umano ritroviamo anche delle cristallizzazioni che, al contrario delle fisiologiche, non assolvono ad un ruolo ben preciso nell'organismo, anzi la loro formazione rappresenta una vera e propria patologia. Tali cristallizzazioni sono perciò definite patologiche.

In funzione dell'organo o parte del corpo colpito, distinguiamo:

- ⇒ Litiasi renale: patologia causata dalla presenza di calcoli nei reni o nelle vie urinarie. I calcoli renali variano in funzione della loro composizione come ossalato e fosfato di calcio, struvite, acido urico e cistina.
- ⇒ Calcificazioni cardiovascolari: patologia caratterizzata dalla deposizione di fosfato di calcio (idrossapatite) nei tessuti cardiovascolari: vasi sanguigni, miocardio e valvole cardiache.
- ⇒ Sialolitiasi: malattia caratterizzata dalla formazione di calcoli o depositi cristallini nelle ghiandole o condotti salivari.
- ⇒ Formazione di tartaro: formazione di depositi calcificati nei denti derivanti dalla mineralizzazione della placca.
- ⇒ Condrocalsinosi: malattia caratterizzata da depositi di sale di calcio (pirofosfato calcico) nella cartilagine.
- ⇒ Gotta: deposizione di acido urico, in forma di urato sodico, nelle articolazioni e periarticolazioni come conseguenza dell'alto livello di acido urico nel sangue (iperuricemia).
- ⇒ Altri tipi di cristallizzazioni patologiche si sviluppano nel condotto biliare (calcoli biliari), stomaco (gastolito), intestino (entrolito), ghiandole mammarie (galactolito), etc.

1.3 I BIOMINERALI PATOLOGICI NELLA NEFROLITIASI

Per calcolosi renale o nefrolitiasi si intende la presenza nelle cavità dei reni di formazioni cristalline denominate calcoli, derivanti dalla precipitazione e dall'aggregazione di soluti presenti nelle urine (fig. 1.1).

Lo stesso fenomeno riferito ad un segmento qualsiasi delle vie urinarie (calici, pelvi, uretere, vescica, uretra), si definisce calcolosi urinaria o urolitiasi. E' solito riferirsi alla nefrolitiasi includendo anche i calcoli di questo tipo.

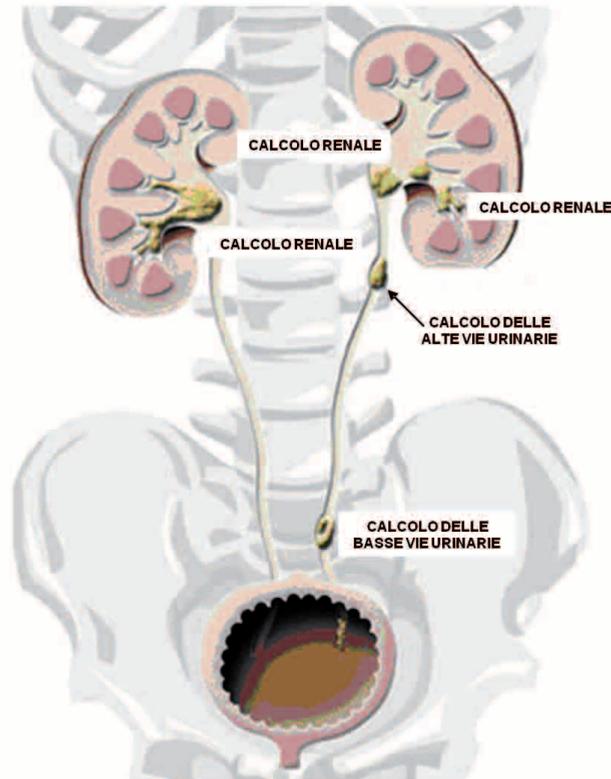


Figura 1.1 Schema delle possibili sedi di formazione dei calcoli
Scheme of possible sites of kidney stones formation

Questa è una malattia molto frequente che affligge dall'1% al 15% della popolazione mondiale [Kim 2002; Ramello et al. 2000; Schneider 1985; Scott 1985].

La prevalenza di litiasi renale differisce molto nelle diverse parti del mondo: in Asia è pari al 1-5%, in Europa al 5-9%, nel Nord America 13-15% ed in Arabia Sudita 18-20% [Hess 2003; Lee 2002; Serio & Fraioli 1999].

In Italia, negli ultimi dieci anni questa patologia ha registrato un incremento, particolarmente accentuato nel Mezzogiorno [Baggio 1999; Serio & Fraioli 1999].

La sintomatologia di un paziente affetto da calcoli renale può essere assente o sfumata, oppure essere conclamata con il manifestarsi della classica colica renale.

La litiasi renale è stata sempre presente, praticamente dall'inizio dell'umanità. Già gli antichi Babilonesi e gli Egiziani avevano frequenti esperienze di coliche renali e calcoli renali. Le mummie arrivate sino ai nostri giorni ne presentano sia nei reni che in vescica.

Il calcolo più antico di cui si è a conoscenza è datato al 4800 a.C., ed è stato ritrovato in una tomba preistorica di El Amrah [Desnos 1972].

Il primo studio sulla composizione di un calcolo renale fu realizzato intorno al 1800 da Schellee (1742–1786) e Bergman (1734–1794), che identificarono un calcolo di acido urico.

Sino a venti anni or sono si aveva pochissima cognizione medica delle cause e della terapia della nefrolitiasi e molti atteggiamenti terapeutici si avvalevano di rimedi di tipo empirico, talvolta avvolti da un'aura di mistero.

Negli ultimi tempi il progresso scientifico ha chiarito molti aspetti fisico-chimici, ambientali e metabolici della origine e formazione dei calcoli renali.

Oggi la terapia medica delle anomalie urinarie che sono presenti nei soggetti afflitti da calcolosi permette di prevenire nuovi eventi in circa il 95% dei soggetti. Tra le diverse terapie possibili ritroviamo la terapia idroponica che consiste nell'assunzione abbondante e ripetuta di acqua durante la giornata (fino a 3 litri), associata ad una dieta normo o moderatamente ipoproteica e iposodica. In associazione a questa terapia troviamo la terapia farmacologica che dipende dal tipo di calcolo e mira a favorire la disgregazione del biominerale e l'escrezione del materiale, e/o a fermarne la formazione. Questa terapia necessita di una conoscenza approfondita delle componenti mineralogiche del calcolo.

Al progresso nella prevenzione si è aggiunta la litotrixxia extra-corporea ad onde d'urto (*Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy*), che ha cambiato completamente l'orizzonte e la prognosi clinica dei soggetti con calcoli renali. Si tratta di onde d'urto generate da una macchina e trasmesse ai tessuti molli dell'organismo; tali onde si infrangono sulla superficie solida del calcolo, inducendone la polverizzazione. Il "puntamento" del calcolo, avviene tramite l'ecografia o un apparecchio radiologico. Tale metodica è efficace in caso di calcoli renali non superiori ad 1,5 cm e in molti calcoli delle vie urinarie.

Ci sono anche terapie più aggressive come l'ureteroscopia, che consiste nel raggiungere il calcolo nelle vie urinarie (in anestesia) con uno strumento che

permette la visualizzazione del calcolo che potrà essere frantumato (applicando energia laser) o estratto con appositi strumenti. E' possibile applicare anche la chirurgia, se i calcoli sono di notevoli dimensioni, o quando siano insorte complicazioni settiche, quindi si rimuove il calcolo e/o si drena, quando sia necessario, il focolaio d'infezione.

Tuttavia, nonostante gli studi su questa patologia si siano estesi ed approfonditi, al giorno d'oggi rimane ancora una patologia ad alta percentuale di recidive (il 75% nei 10 anni che seguono, Uribarri 1989) dovute al fatto che, nella maggior parte dei casi, non viene attuato un trattamento terapeutico efficace ed adatto al tipo di calcolo in esame.

La motivazione si deve al fatto che, questa patologia essendo multifattoriale deve essere affrontata con conoscenze diversificate come: la mineralogia, la cristallografia, la fisiologia renale, la biochimica e la chimica analitica.

Attualmente, le analisi e lo studio dei calcoli renali sono ad uno stadio molto avanzato, tale da poter stabilire dei criteri di diagnosi e di trattamento terapeutico adeguato ad ogni tipologia di calcolo, anche perchè grazie alle maggiori conoscenze ottenute sulla composizione dei calcoli, possiamo stabilire i meccanismi di formazione e i fattori che li hanno influenzati.

Queste informazioni permettono di classificare il paziente secondo una forma clinica ben definita per poter, di conseguenza, stabilire un trattamento terapeutico adatto basandosi sulla modificazione di alcuni fattori quali: pH, calciuria, uricosuria, inibitori della cristallizzazione, etc.

1.3.1 TIPO DI CALCOLI RENALI

Il calcolo renale è una massa dura che si sviluppa da cristalli che, dalle urine "sovrassature", si separano e crescono a formarlo già all'interno dei tubuli renali.

Normalmente nelle urine si concentrano una quantità di sostanze chimiche che partecipano alla formazione dei cristalli (in termini tecnici queste sostanze vengono chiamate: promotrici), contrastate da altre sostanze chimiche, che inibiscono la precipitazione dei cristalli delle sostanze promotrici (inibitrici). E' il gioco tra inibitori e promotori che impedisce in condizioni normali, cioè in soggetti normali, la formazione dei calcoli renali, anche in condizioni critiche.

La formazione di calcoli è lo stesso processo chimico che comporta la precipitazione dello zucchero nella tazzina di caffè oppure quando si forma il sale nelle saline: se la sostanza contenuta nelle urine è più concentrata del normale, rischia di precipitare.

I calcoli renali possono essere costituiti da varie componenti chimiche, singole o in combinazione quali ossalati e fosfati di calcio, acido urico e cistina [Daudon

et al. 1993]. Queste diverse fasi mineralogiche sono state subito individuate per grandi linee, anche se sorprende la scarsità di studi in merito se paragonata alla letteratura scientifica sulle ricerche epidemiologiche.

La prima grande differenziazione tra i calcoli renali viene fatta proprio sulla base dei suoi componenti maggiori, distinguendo i calcoli inorganici da quelli organici (fig. 1.2).

Questa prima semplice classificazione è ancora oggi considerata nella prassi medica, che fa capire come informazioni derivanti dalla struttura interna del calcolo e del suo meccanismo di formazione sono omesse nella diagnosi della nefrolitiasi.

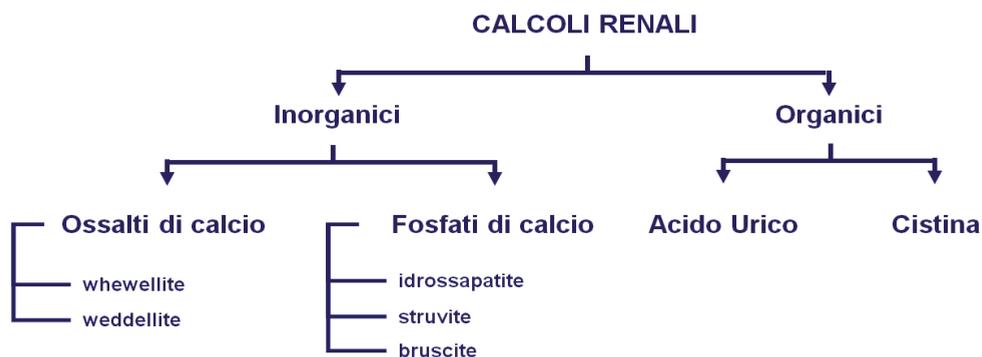


Figura 1.2 Schema classificativo classico dei calcoli renali

Classical classification of kidney stones

Il miglioramento delle tecniche analitiche ha consentito in seguito di sviluppare questa semplice classificazione composizionale aggiungendo dati sulla struttura interna dei calcoli ed informazioni sui meccanismi di formazione (fig. 1.3) [Grases et al. 1998a].

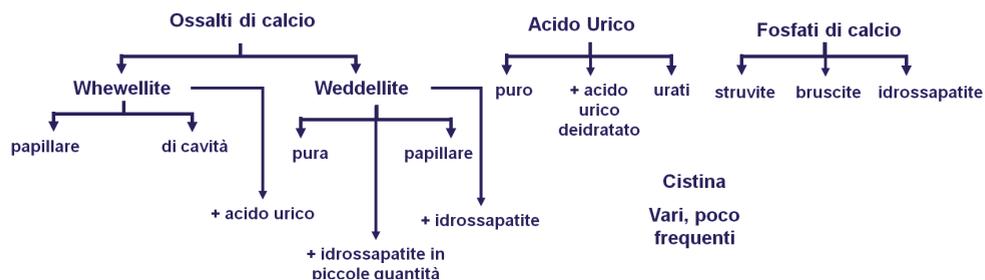


Figura 1.3 Classificazione morfo-composizionale dei calcoli renali

Morpho-compositional classification of kidney stones

CALCOLI DI OSSALATO DI CALCIO

I calcoli di ossalato di calcio sono quelli che hanno una maggiore incidenza rappresentando, approssimativamente, il 70% del totale.

In questo tipo di calcoli è importante tener conto che, anche la condizione di un'urina sovrassatura in ossalato di calcio, non è sufficiente per indurre, da sola, la formazione di cristalli di ossalato di calcio [Brown et al. 1991; Finlayson 1978a; Finlayson & Reid 1978b; Lieske et al. 1997]. Questo tipo di calcoli necessita di una composizione dell'urina differente, capace di formare un nucleo sopra il quale i cristalli di ossalato di calcio possano svilupparsi [Brown et al. 1991; Finlayson 1978a; Finlayson & Reid 1978b].

I calcoli di ossalato di calcio, in funzione della loro composizione, si possono dividere in due grandi gruppi: calcoli di ossalato di calcio mono-idrato ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) e calcolo di ossalato di calcio bi-idrato ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) [Kim 1982].

I calcoli di ossalato di calcio mono-idrato solitamente si presentano in casi di calciuria normale e con una bassa concentrazione di inibitori [Conte et al. 1990; Galán et al. 1996; Pierratos et al. 1994].

In funzione del loro processo di formazione, i calcoli di whewellite si possono dividere in due diversi gruppi: papillari e di cavità.

- Calcoli di whewellite papillari

Struttura: Un tipico calcolo di whewellite papillare si presenta con una forma conica e con un ben evidente punto di contatto con l'epitelio. Di solito è formato da tre parti: un nucleo di composizione variabile (decentrato), una parte intermedia striata radialmente ed uno strato periferico concentrico con struttura laminata [Iwata et al. 1985].

Meccanismo di formazione: Si forma sulla papilla renale nella zona in cui lo strato antiaderente di glicosaminoglicani¹ (GAGs) risulta danneggiato per qualche disfunzione cellulare, attacco esterno (inquinamento ambientale) o per l'esistenza di calcificazione intrapapillare (placche di Randall) [Gill et al. 1982; Grases et al. 1993a, 1999; Lieske et al. 1997; Pieras et al. 2006; See & Williams 1992; Söhnel et al. 1993].

Quando lo strato di GAGs risulta molto danneggiato è il suo detrito cellulare (risultato dell'aggressione) che può fungere da nucleo ed indurre la formazione e l'accrescimento dei cristalli di whewellite sulla sua superficie (fig. 1.4).

Talvolta, anche quando lo strato di GAGs non risulta danneggiato, possono

¹ I glicosaminoglicani, o glicosamminglicani, (noti anche come GAGs o mucopolisaccaridi), sono lunghe catene non ramificate formate da unità disaccaridiche che continuano a ripetersi in ordine determinato alternando un amminosaccaride ad un monosaccaride in genere acido. I GAG svolgono prevalentemente funzioni di sostegno e protezione della maggior parte dei tessuti.

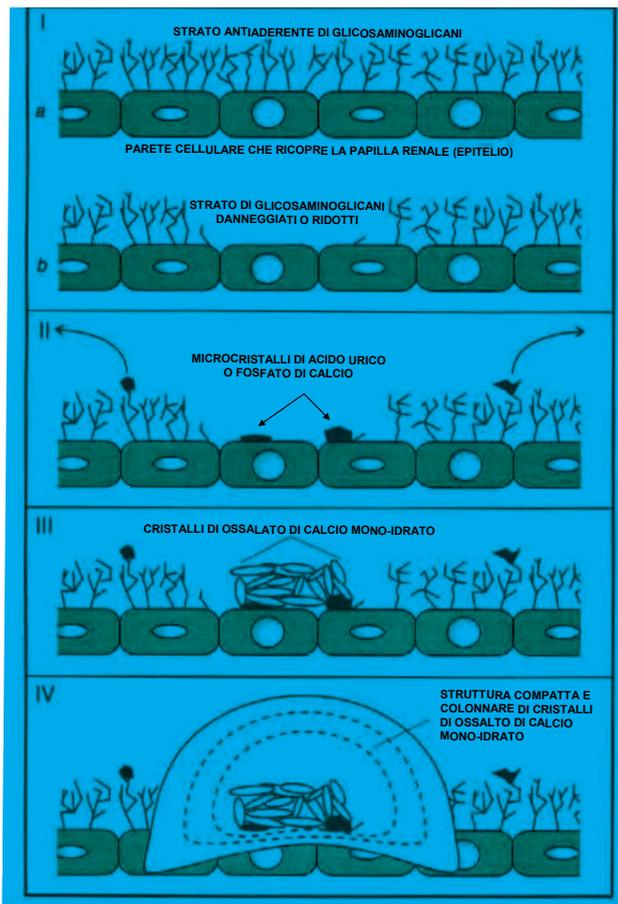


Figura 1.4 Schema del meccanismo di formazione dei calcoli di ossalato di calcio mono-idrato papillare [Söhnel & Grases 1995]

Scheme of the papillar calcium oxalate monohydrate kidney stone formation

aderire sopra questa zona, determinate sostanze che sono in grado di fungere da nucleo ed indurre la formazione e l'accrescimento di cristalli di ossalato di calcio come il caso precedente [Grases et al. 1993a, 1993b, 1994a, 1994b; Söhnel et al. 1993; Söhnel & Grases 1995].

- Calcoli di whewellite di cavità

Struttura: Un tipico calcolo di whewellite di cavità è formato da due zone differenti: un nucleo o zona centrale di composizione variabile (che contiene il o gli elementi eterogenei che hanno funto da nucleanti per la formazione di tutto il calcolo) e una zona periferica costituita da cristalli colonnari di whewellite che si sono accresciuti perpendicolarmente alla superficie del nucleo [Grases et al. 1998b].

Meccanismo di formazione: Si generano in determinate zone del rene dove è assente o scarso il flusso urodinamico [Chandhoke & May 1996], come può essere il calice renale inferiore, dove la soluzione urinaria permane per un periodo di tempo superiore al tempo di residenza nell'intero rene.

La sola sovrassaturazione urinaria in calcio ed ossalato non è sufficiente a giustificare la formazione di cristalli di whewellite [Brown et al. 1991; Finlayson 1978a; Finlayson & Reid 1978b], circostanza che rende imprescindibile la presenza di promotori della cristallizzazione.

Questi promotori possono essere i medesimi della whewellite papillare (fosfato di calcio, acido urico, detriti) [Cifuentes 1984; Elliot 1973].

La forma bi-idrata è la fase termodinamicamente instabile e cineticamente favorevole dell'ossalato di calcio; la fase termodinamicamente stabile è la forma monoidrata [Nakai et al. 1996; Skrtic et al. 1987].

La formazione dell'ossalato di calcio bi-idrato avverrà solo considerando i fattori cinetici.

La presenza di ipercalciuria e/o iperossaluria, forza ionica elevata, notevoli quantità di citrato e la presenza di fosfato di calcio a $\text{pH} < 6.0$ [Grases et al. 1990] consentono, quindi, la formazione di ossalato di calcio bi-idrato.

Questi tipi di calcoli si possono dividere in tre gruppi: calcoli di weddellite papillari, calcoli di weddellite di cavità e calcoli misti di weddellite e idrossapatite.

- Calcoli di weddellite papillari

Struttura: Sono poco frequenti. Presentano due zone chiaramente differenti: una zona centrale costituita o da un piccolo calcolo papillare di whewellite o da un deposito papillare di idrossapatite. L'altra zona è periferica ed è costituita da grandi cristalli bi-piramidali di weddellite che si attaccano alla zona centrale. I cristalli di weddellite, a causa della loro forma bi-piramidale, non possono crescere parallelamente ma si sovrappongono gli uni sugli altri a formare una struttura disordinata.

Meccanismo di formazione: Il meccanismo di formazione di questo tipo di calcolo è uguale a quello descritto per i calcoli di whewellite papillare. Solo che, in questo caso, una volta formatosi il piccolo calcolo papillare di whewellite, i cristalli che si formano sulla superficie sono di weddellite per le diverse condizioni urinarie (una calciuria e/o ossaluria elevata e valori di pH superiori a 6.0).

- Calcoli di weddellite di cavità

Struttura: Questi calcoli sono formati da cristalli bi-piramidali di weddellite

e alcuni cristalli di dimensioni variabili di whewellite quale risultato della trasformazione da weddellite in whewellite. Anche questi calcoli possono presentare piccole quantità di idrossapatite distribuita irregolarmente.

Meccanismo di formazione: Questo tipo di calcolo si forma in cavità con bassa energia urodinamica. La sedimentazione di alcune particelle solide (principalmente materia organica e idrossapatite) in queste cavità, induce la formazione sulla loro superficie di cristalli di ossalato di calcio bi-idrato.

- Calcoli misti di weddellite / idrossapatite

Struttura: Questi calcoli sono composti da cristalli di weddellite e possono esserci quantità di whewellite quale risultato di trasformazione di cristalli di weddellite, ma soprattutto importanti quantità di idrossapatite e materia organica che, frequentemente, si dispongono alternativamente a formare strati differenziati [Cifuentes 1984].

Meccanismo di formazione: Questi calcoli si presentano normalmente in pazienti ipercalcemici (calcio urinario superiore a 250–300 mg/24h) e si formano in cavità con bassa energia urodinamica. La sedimentazione di materia organica e la sua formazione di idrossapatite è dovuta ad un pH urinario superiore a 6.0, e può indurre la formazione di cristalli di weddellite quando l'urina presenta alti livelli di calcio. La presenza di strati di idrossapatite e weddellite è stata attribuita ad un cambio di composizione dell'urina dovuto a modificazioni delle abitudini alimentari [Cifuentes 1984].

CALCOLI DI FOSFATO

I tre tipi di calcoli di fosfato più frequenti sono: idrossapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$), bruscite ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) e struvite o fosfato-ammonio-magnesio ($\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) [Murphy & Pyrah 1962; Prien & Frondel 1947].

La fase termodinamicamente stabile in soluzione acquosa è la bruscite per pH inferiori a 5.0 e l'idrossapatite per pH superiori a 5.0 [Kemenade & Bruyn 1987; Nancollas & Koutsoukos 1980]. In questo modo, i fosfati si trasformano in idrossapatite o bruscite in funzione del pH della soluzione.

I calcoli di fosfato si possono dividere in due categorie: calcoli di fosfato non da infezioni (i quali sono composti principalmente di idrossapatite e bruscite) e calcoli di fosfato da infezioni (che sono formati da struvite con quantità variabile di idrossapatite) [Daudon et al. 1993].

- Calcoli di fosfato da infezioni

Struttura: Contengono sempre struvite, la quale rappresenta dal 20% al 60% della massa del calcolo di fosfato. La restante percentuale può essere costituita

da idrossapatite e/o idrossapatite deficitaria in calcio secondo la relazione Ca/P (tra 1.3 e 1.6).

Questi calcoli hanno di solito dimensioni considerevoli e non presentano una struttura interna regolare. Vengono anche detti calcoli coralliformi o a stampo [Heilberg & Schor 2006]. Al SEM è visibile, sulla superficie dei cristalli, una incisione a forma di “Y” molto caratteristica.

I cristalli di struvite che si osservano in questi calcoli, hanno dimensioni che possono raggiungere i 100 µm, disseminati in tutto il calcolo e legati a materia organica o a sfere individuali di idrossapatite, che di frequente si accumulano nelle cavità del calcolo.

Meccanismo di formazione: L'infezione batterica del tratto urinario è la causa più comune di questo tipo di calcolo. I germi urinari (Proteus, Ureoplasma, etc.) provocano un notevole innalzamento del pH urinario (superiore a 7.0) e della concentrazione di ammonio, favorendo così la precipitazione di struvite e idrossapatite [Rieu 2005].

La massa cristallina che si forma, legata al detrito organico (es. residui cellulari, batteri, mucoproteine) per semplice sedimentazione, può dare origine ad importanti depositi che, con la perdita dell'acqua, si trasformano nei calcoli.

Tra i calcoli di fosfato non da infezioni ritroviamo l'idrossapatite e la bruscite.

- Calcoli di idrossapatite

Struttura: La struttura interna dei calcoli di idrossapatite, è caratterizzata da una serie di strati di materiale amorfo che sono conosciuti come strati aspidinici di idrossapatite [Cifuentes 1984], caratteristici perchè, pur non presentando una struttura definita macroscopicamente, microscopicamente si possono riconoscere delle piccole sfere di 0.1 µm di materiale amorfo di cui sono composti.

Le sfere di idrossapatite si accumulano in gran parte nelle cavità con bassa energia urodinamica come entità individuali o formando degli aggregati con diametro di 50 µm. Questi calcoli contengono una grande quantità di materia organica.

Meccanismo di formazione: È richiesta l'esistenza di cavità renali con bassa energia urodinamica, combinata a valori di pH superiori a 6.0, ipercalciuria e ipomagnesuria [Bushinsky et al. 2000; Gault et al. 1991; Parks et al. 2004; Peacock 2002]. In queste condizioni si generano nell'urina dei microcristalli di idrossapatite, probabilmente indotti dalla presenza di materia organica.

La compattazione di tutto questo materiale a causa della perdita di acqua, può portare alla formazione del calcolo.

- Calcoli di bruscite

Struttura: Non sono calcoli con struttura compatta, però contengono numerose cavità riempite da sfere di idrossapatite e materia organica. I cristalli di bruscite presentano dimensioni considerevoli e si dispongono in modo parallelo gli uni con gli altri a formare una struttura colonnare.

Meccanismo di formazione: Il meccanismo di formazione di questi tipi di calcoli, è uguale a quello dei calcoli di idrossapatite e quindi richiedono cavità renali con bassa energia urodinamica. In questo caso il contenuto di magnesio delle urine è normale, ed il pH oscilla tra 6-7 ed è frequente avere un deficit di inibitori della cristallizzazione [Grases et al. 1996a]. In questi tipi di calcoli si combinano fenomeni di sedimentazione ed accrescimento cristallino.

CALCOLI DI ACIDO URICO

I calcoli composti maggiormente da acido urico rappresentano l'8-13% di tutti i calcoli renali [Grases et al. 2002; Leusmann 1991].

L'acido urico in soluzione acquosa a pH inferiore a 5.5, può cristallizzare nella sua forma anidra, deidratata o come un miscuglio di entrambi, in funzione delle condizioni di dissoluzione [Babic-Ivancic et al. 1987].

Studi in vitro hanno dimostrato che l'acido urico anidro è la forma termodinamicamente più stabile rispetto all'acido urico deidratato, il quale si forma con sovrassaturazione molto più elevata. Quest'ultima è una fase molto instabile che tende a trasformarsi nella fase anidra, perdendo l'acqua e generando una struttura fragile con fessure e crepe [Hesse et al. 1975, 1979].

Per queste motivazioni, nei calcoli renali prevale l'acido urico anidro piuttosto che l'acido urico deidratato e in molti casi entrambi le forme. È anche frequente rilevare la presenza di cristalli di ossalato di calcio, soprattutto whewellite, tra i cristalli di acido urico; a testimoniare l'abilità dei cristalli di acido urico di fungere da agenti nucleanti dell'ossalato di calcio.

I calcoli di acido urico si possono classificare, in base alla loro struttura, in due tipi diversi [Grases et al. 2000a]: compatti e porosi.

- Calcoli di acido urico compatti

Struttura: Sono principalmente costituiti da cristalli di acido urico anidro generati per accrescimento cristallino lento (bassa sovrassaturazione) o per ricristallizzazione. Possono anche essere presenti depositi di piccole particelle che provengono dall'urina.

Meccanismo di formazione: Si formano a partire dalla nucleazione di una parte centrale costituita da grandi cristalli di acido urico anidro, concrezioni di origine sedimentaria relativamente grandi composte da numerosi cristalli o piccole

concrezioni di whewellite. Questo nucleo è situato in cavità renali aperte, dove l'urina fresca può entrare facilmente. In questo modo, sopra il nucleo, che sta in continuo contatto con l'urina fresca, si accresce uno strato cristallino compatto, composto maggiormente da acido urico anidro. I cristalli colonnari che costituiscono questo strato, formano la parte maggiore dell'interno del calcolo. Questo significa che una relativamente bassa sovrassaturazione rispetto all'acido urico, prevale durante la formazione del calcolo, e che conseguentemente si ha un lento accrescimento cristallino. Senza dubbio, la presenza di una laminazione concentrica composta da piccoli cristalli disorientati, implica l'esistenza di episodi di sovrassaturazione urinaria.

Lunghi periodi di elevata sovrassaturazione, provocano la formazione di nuovi cristalli di acido urico anidro ed acido urico deidratato, i quali possono provocare la rottura della struttura colonnare.

- Calcolo di acido urico porosi

Struttura: L'accrescimento cristallino combinato alla sedimentazione, sono i due importanti processi che portano alla formazione di questo tipo di calcoli. Si possono suddividere in due gruppi differenti in funzione della struttura dello strato superficiale:

- Calcoli che presentano una parte interna porosa, formata da materiale di origine organica, cristalli di acido urico anidro e whewellite di forma e dimensioni caratteristiche come appaiono nell'urina durante la cristalluria. La parte più esterna del calcolo è costituita da un sottile strato compatto di materiale cristallino. Il principale componente di questo tipo di calcolo di acido urico anidro, si presenta associato a cristalli di whewellite disseminati nella massa del calcolo e a grandi blocchi originariamente di acido urico deidratato che si sono trasformati in acido urico anidro dando vita alle caratteristiche crepe parallele longitudinali.
- Calcoli formati da uno strato esterno ben sviluppato, composto maggiormente da grandi blocchi originariamente di acido urico deidratato che si sono trasformati in acido urico anidro dando luogo alle caratteristiche crepe. Questo strato è come una specie di guscio. La parte interna del calcolo è pieno o parzialmente pieno di particelle che si sono depositate durante la calcologenesi.

Meccanismo di formazione: Si generano a partire dallo sviluppo di un deposito cristallino nella parete di una cavità renale a bassa energia urodinamica. Le particelle presenti nell'urina (cristalli di acido urico, ossalato di calcio o detrito organico) si depositano in condizioni ottime nella cavità.

Queste particelle rimangono a contatto con l'urina e favoriscono l'accrescimento dei cristalli di acido urico anidro e acido urico deidratato. La cavità interiore si

riempie di cristalli di acido urico anidro, particelle di whewellite e di materia organica. L'interno del calcolo è poroso ed ha una struttura disordinata. Quando la cavità diventa piena, lo strato compatto che ricopre la superficie del calcolo continua a crescere fino a che non ricopre completamente la superficie del calcolo.

CALCOLI DI CISTINA

Struttura. I calcoli di cistina sono poco frequenti (rappresentano approssimativamente l'1-2% del totale, Grases et al. 2002) e si caratterizzano per il loro aspetto, la durezza e la difficile frammentazione.

Meccanismo di formazione. Questo tipo di calcolo si ottiene quando ci sono le condizioni di una eliminazione renale di cistina anormalmente elevata dovuta ad una alterazione genetica ed ad un pH urinario acido (la cistina è un aminoacido che è molto poco solubile in un mezzo acido). Questi calcoli non sono di solito papillari e la loro formazione è data dalla combinazione di processi di sedimentazione ed accrescimento cristallino.

CALCOLI POCO FREQUENTI

I calcoli poco frequenti rappresentano l'1-2% dei calcoli totali [Grases et al. 2002] e sono, di solito, dovuti all'ingestione abbondante e continuativa di alcuni prodotti come, per esempio alcuni tipi di farmaci.

In questo tipo di calcoli citiamo quelli formati da silice, glefamina, sulfamidi, etc. Altri calcoli poco frequenti, ma di origine non farmacologica, sono quelli di carbonato di calcio (frequenti nei ruminanti), quelli di urato calcico e quelli composti interamente da materia organica.

Tra i calcoli poco frequenti rientrano anche degli artefatti. Infatti, talvolta vengono scambiati per calcoli, pezzi di rocce o semi.

1.3.2 LE FASI DEL PROCESSO DI CRISTALLIZZAZIONE

E' noto che la cristallizzazione avviene attraverso tappe: nucleazione, accrescimento cristallino ed aggregazione. Questi processi combinati anche con i fattori di rischio della nefrolitiasi determinano il processo di cristallizzazione.

Di seguito vengono mostrati alcuni schemi rappresentativi del processo di cristallizzazione per evidenziare come, pur avendo in tutti gli stessi elementi e fasi, questi vengono combinati tra di loro in vario modo a formare degli algoritmi di calcologenesi molto diversi, a rappresentare la complessità del fenomeno

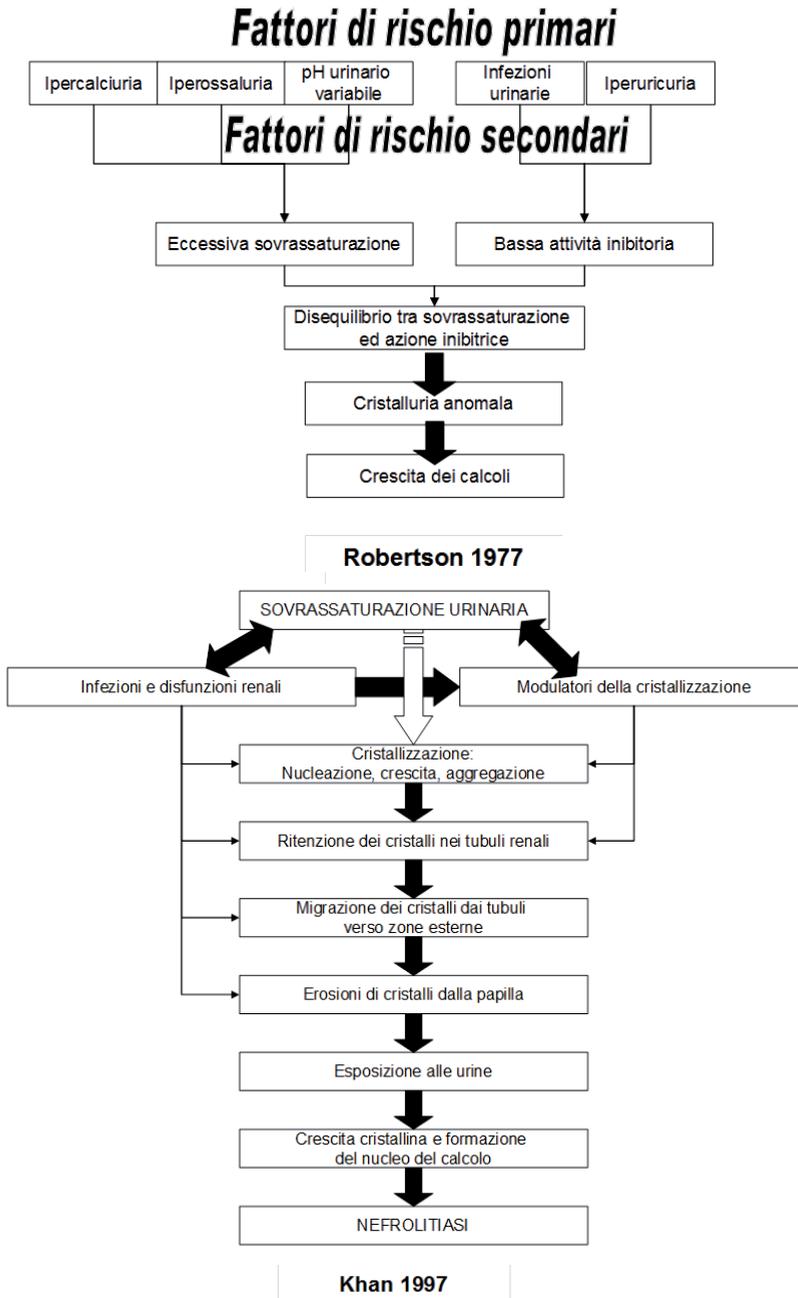


Figura 1.4 bis Esempi di schemi del processo di cristallizzazione

Examples of crystallization processes

NUCLEAZIONE

La nucleazione implica la formazione di una massa cristallina minima capace di seguire l'accrescimento ed è, senza dubbio, lo stadio iniziale più importante di tutto il processo di cristallizzazione.

Occorre distinguere che dal punto di vista della dissoluzione, le microparticelle si disgregano e si ri-aggregano in maniera che gli aggregati di dimensioni inferiori a certi valori critici, risulteranno instabili e si disintegreranno, al contrario quelle di dimensioni superiori risulteranno instabili e precipiteranno, formando così uno strato minimo capace di seguire la cristallizzazione seguente.

La nucleazione può essere fondamentalmente di due tipi: omogenea ed eterogenea.

Nella nucleazione omogenea, la particella elementare è costituita dalla stessa specie che andrà a costituire il futuro cristallo (fig. 1.5).

Questo tipo di nucleazione è un processo difficile e poco probabile che necessita di una sovrassaturazione molto elevata [Finlayson 1978a].

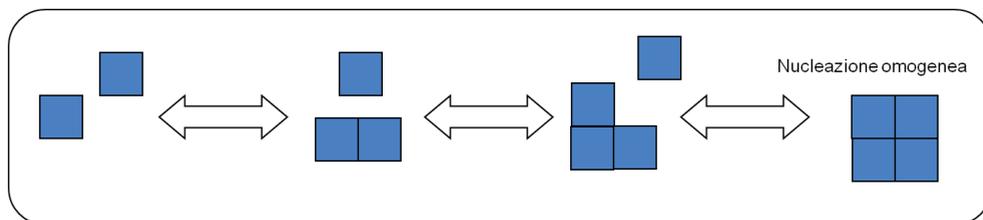


Figura 1.5 Illustrazione della nucleazione omogenea

Figure of homogeneous nucleation

La nucleazione eterogenea è molto più frequente di quella omogenea, dal momento che necessita unicamente della presenza di particelle solide che siano capaci di attrarre e trattenere sulla superficie, le specie che andranno a costituire il futuro cristallo (fig. 1.6).

In questo caso, il nucleo presenta una composizione differente dal resto del cristallo.

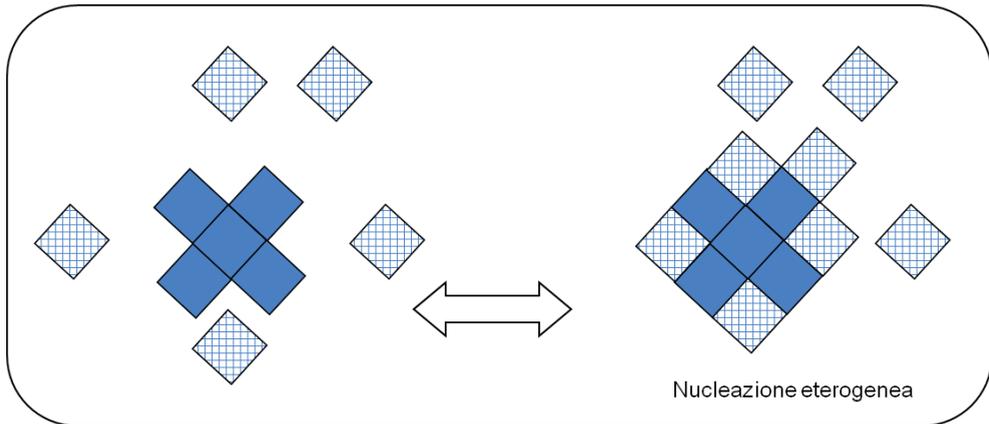


Figura 1.6 Illustrazione della nucleazione eterogenea

Figure of heterogeneous nucleation

Una volta formatosi il nucleo, la successiva formazione del cristallo implica la combinazione di due processi: l'accrescimento cristallino e l'aggregazione.

La nucleazione e la crescita cristallina sono regolate dal bilancio di energia prodotta dalla sovrassaturazione urinaria e consumata dalla formazione dei cristalli. I due processi hanno però bisogno di una differente quantità di energia, molto elevata è quella richiesta per la nucleazione spontanea [Finlayson 1978a].

ACCRESIMENTO CRISTALLINO

L'accrescimento cristallino prevede la incorporazione graduale delle unità che vanno a costituire il futuro cristallo sopra la parte esterna (faccia) dello stesso, nella posizione più favorevole (fig. 1.7). L'accrescimento cristallino avviene attraverso tre processi:

Trasporto di materia: dalla soluzione sovrassatura verso il cristallo per diffusione e/o convezione.

Reazione superficiale: che prevede la incorporazione graduale dalle unità elementari al cristallo.

Evacuazione del calore della cristallizzazione verso il cristallo fino al cuore della soluzione. Nelle soluzioni sovrassaturate, questo processo è molto favorito e si ottiene con molta facilità.

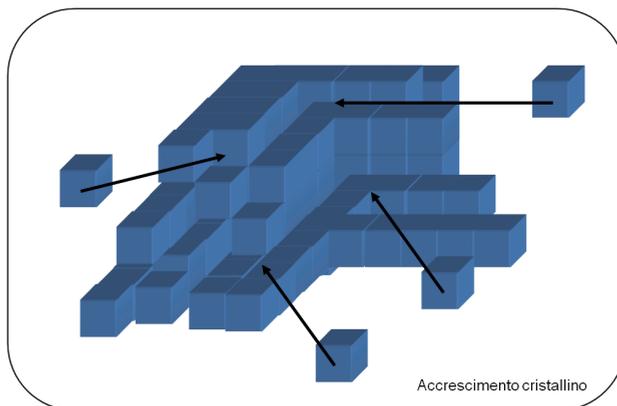


Figura 1.7 Illustrazione dell'accrescimento cristallino

Figure of crystalline growth

AGGREGAZIONE

L'aggregazione di cristalli è principalmente governata da forze di attrazione di tre tipi diversi: Van der Waals, legami viscosi e repulsione elettrostatiche [Finlayson 1978a].

L'aggregazione può essere di due tipi: primaria e secondaria.

L'aggregazione primaria implica la formazione di nuovi cristalli (cristalli figli) sopra le facce dei cristalli già esistenti (cristalli padre) [Jones 1989].

Questo tipo di aggregazione si ha con molta o poca facilità a seconda della natura dei cristalli, ad esempio nel caso dell'ossalato di calcio, questo è un processo molto favorevole (fig. 1.8) [Grases et al. 1989a, 1989b, 1992a, 1992b, 1992c; Millan et al. 1992].



Figura 1.8 Immagine di un aggregato primario di ossalato di calcio monoidrato (whewellite)

Figure of a primary aggregate of calcium oxalate monohydrate

L'aggregazione secondaria consiste nell'unione di cristalli già formati mediante legami deboli (fig. 1.9). Esistono delle sostanze che agiscono come ponti di unione fra i vari cristalli, favorendo il processo menzionato.

L'aggregazione secondaria ha un ruolo importante nei mezzi dove esiste una grande quantità di cristalli (es., la litiasi da infezione o da fosfato di calcio).

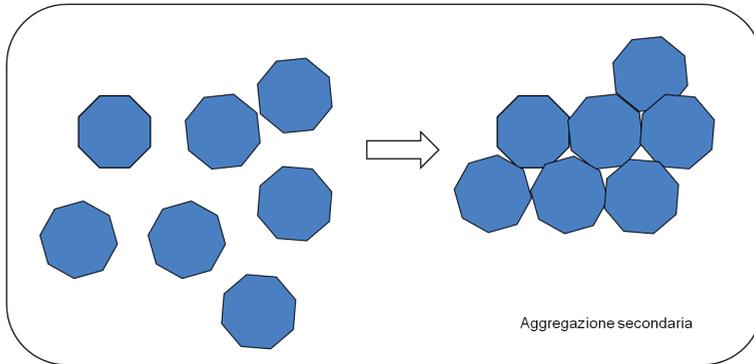


Figura 1.9 Illustrazione dell'aggregazione secondaria

Figure of secondary aggregation

1.3.3 I FATTORI DETERMINANTI IL PROCESSO DI BIOMINERALIZZAZIONE

I fattori etiologici da considerare nello studio delle cristallizzazioni patologiche, si possono classificare in due grandi gruppi (fig. 1.10):

Fattori relativi alla composizione dell'urina ed alla morfo-anatomia del sistema urinario
Fattori demografici, ambientali e comportamentali

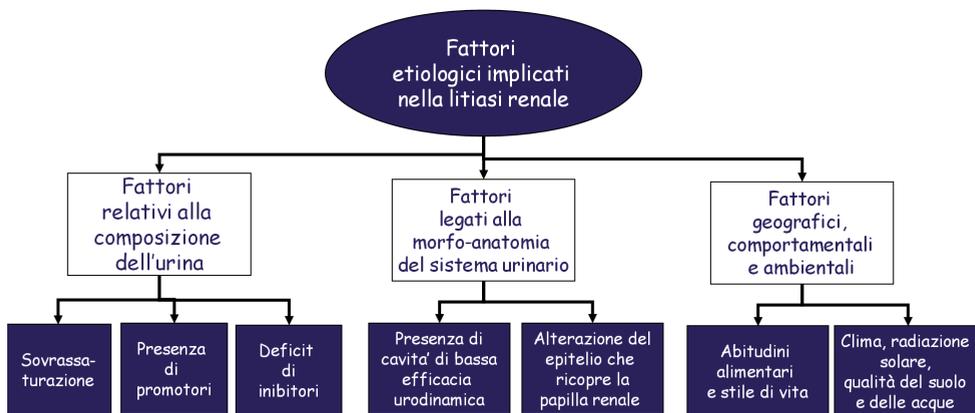


Figura 1.10 Schema dei fattori etiologici implicati nella litiasi renale

Scheme of the etiological factors involved in nephrolithiasis

COMPOSIZIONE DELLA SOLUZIONE URINARIA E MORFO-ANATOMIA DEL RENE

La cristallizzazione di calcoli renali è dovuta principalmente ad un'anomala composizione della soluzione urinaria; anomalie dovute o a fattori metabolici o ambientali. Questo fattore di rischio è il primo ad essere ricercato nella fase di diagnosi della patologia della nefrolitiasi. Diverse anomalie di composizione possono coesistere nello stesso sito di biomineralizzazione.

La sovrassaturazione dell'urina in un elemento in particolare, favorisce la litiasi renale. La sovrassaturazione è il meccanismo scatenante della cristallizzazione, e quindi quando una soluzione è sovrassatura di componente, dal punto di vista termodinamico risulta instabile ed è solo questione di tempo che il componente precipiti.

Nel caso dell'urina, questo è un mezzo che è quasi sempre sovrassaturato rispetto all'ossalato di calcio e, in funzione del pH, può essere sovrassaturato anche rispetto all'acido urico (pH < 5.5) o al fosfato di calcio (pH > 6).

L'ipercalcemia è ritrovata nel 50% dei pazienti con calcoli, e contribuisce alla loro formazione, incrementando la saturazione dell'urina per il calcio e rallentando l'effetto degli inibitori. La causa principale dell'ipercalcemia è un aumento

dell'assorbimento del calcio a livello intestinale per motivi ancora non chiari ma forse legati all'aumento di proteine o di vitamina D. Questa anomalia è spesso associata con una diminuzione di densità delle ossa.

L'ipocitraturia è un'altra anomalia riscontrata in soggetti con calcoli renali e si riferisce al basso contenuto di citrati dell'urine. I citrati sono considerati delle sostanze che inibiscono la cristallizzazione urinaria.

Per iperuricosuria si intende un contenuto eccessivo di acido urico nella soluzione urinaria, responsabile della formazione dei relativi calcoli ma influenzante anche la formazione dei calcoli di ossalato di calcio.

Questi ultimi sono sicuramente ancor più favoriti se è presente una situazione di iperossaluria, anomalia che può essere genetica o acquisita. La prima forma è più rara, mentre la seconda colpisce il 10% dei pazienti colpiti da litiasi ossalocalcica quale conseguenza di un maggior assorbimento intestinale di ossalato.

Il pH urinario è un altro dei fattori di rischio di nefrolitiasi in quanto influenza la solubilità dei cristalli.

La cistina ha una solubilità molto variabile ed è influenzata dalla solubilità degli elettroliti e macromolecole. La sua solubilità incrementa in modo modesto se il pH raggiunge il valore di 7.5, invece incrementa più velocemente superando tale limite.

L'acido urico risulta stabile solo con $\text{pH} < 5.5$ al contrario i fosfati hanno bisogno di un pH elevato > 7 .

La presenza di infezioni in tutte le vie urinarie è un altro fattore di rischio per la formazione di calcoli soprattutto per quelli composti da struvite, il fosfato di ammonio magnesio.

Come detto precedentemente, il processo di formazione di un cristallo si può avvenire a partire da un nucleo di composizione differente dal resto del cristallo (nucleazione eterogenea). In questo modo, i promotori della cristallizzazione o nucleanti eterogenei sono tutte quelle sostanze che possono comportarsi come nuclei a partire dai quali si possono formare e/o accrescere i futuri cristalli che costituiranno il calcolo.

Qualunque sostanza che ha un'affinità con gli ioni che formano i cristalli dei calcoli possono essere definiti promotori capaci di ridurre l'energia di superficie richiesta per la cristallizzazione.

Per la formazione dei calcoli di ossalato di calcio, i nucleanti eterogenei hanno una grande importanza perchè ricordiamo che, in condizioni normali, l'ossalato di calcio non predilige la nucleazione omogenea.

Tra le sostanze che possono considerarsi come nucleanti eterogenei della litiasi ossalocalcica ci sono i fosfati di calcio (bruscite e idrossapatite) per valori di $\text{pH} > 6$, e l'acido urico per valori di $\text{pH} < 5.5$.

Altre sostanze di interesse sono le proteine, il detrito cellulare, aggregati di glicoproteine, carbonato di calcio e farmaci.

Gli inibitori della cristallizzazione sono sostanze che rendono difficile o impediscono lo sviluppo dei cristalli.

Possono agire sia nel momento della nucleazione (adsorbendosi sopra il nucleo in formazione), sia durante l'accrescimento cristallino (adsorbendosi sopra le facce del cristallo in formazione), ma anche in entrambi i processi.

Gli inibitori della nucleazione omogenea saranno quelle sostanze capaci di unirsi alle microparticelle di dimensioni inferiori al valore critico, impedendo che si formi la particella elementare capace di continuare a crescere. Gli inibitori della nucleazione eterogenea saranno quelle sostanze che evitano che i possibili nuclei eterogenei diventino tali, o impedendo la loro formazione o rendendo difficile l'unione con le specie che costituiranno il futuro nuovo cristallo.

Gli inibitori dell'accrescimento cristallino sono quelle sostanze che vengono assorbite sulla superficie del cristallo già formato, impedendo o rendendo difficile l'incorporazione di nuove unità cristalline. Riguardo agli inibitori dell'aggregazione primaria, non ci sono molti studi a proposito, ma considerato che questo processo è molto simile all'accrescimento cristallino, il comportamento degli inibitori dell'accrescimento cristallino ricalca quello dell'aggregazione primaria.

Gli inibitori dell'aggregazione secondaria sono sostanze cariche che vengono assorbite sulle superfici dei cristalli, conferendogli carica elettrica dello stesso segno. In questo modo, si generano repulsione tra i cristalli e il processo di unione, per formare l'aggregazione secondaria, viene impedito o reso difficile.

Con i processi della polimerizzazione [Scurr & Robertson 1986] e della immobilizzazione sulla superficie [Nancollas et al. 1989], alcune macromolecole presenti nel sito di biomineralizzazione possono convertire degli inibitori in promotori della cristallizzazione.

I primi indizi dell'esistenza di inibitori della cristallizzazione, risalgono agli anni 60.

Bliznakov dimostrò che alcune molecole potevano ridurre il grado di accrescimento di alcune sostanze, dovuto al fatto che si adsorbivano sopra la superficie in accrescimento [Bliznakov 1965].

Il primo inibitore biologico riconosciuto fu il pirofosfato, il quale, a concentrazioni molto basse, inibisce la precipitazione nell'urina dell'ossalato di calcio [Fleisch & Bisaz 1962a, 1962b, 1964].

Dopo il pirofosfato, anche altre molecole presenti naturalmente nell'urina sono state descritte come inibitori, alcune di queste con basso peso molecolare come il magnesio o il citrato [Li et al. 1985; Meyer 1985; Ryall et al. 1981; Pak 1987].

Nell'ultima decade si è osservata una tendenza a considerare le proteine come gli agenti inibitori più importanti, però l'apparizione di articoli scientifici contraddittori (uno descrive gli effetti inibitori mentre altri evidenziano le proprietà chiaramente promotrici della cristallizzazione, Ryall et al. 1997) toglie forza a questa idea, sebbene è chiara la loro azione come sostanze antiaderenti (lubrificanti) di particelle solide sopra l'uroepitelio [Grases et al. 1996a, 1996b; See & Williams 1992]. In qualche caso, non si deve confondere l'effetto lubrificante con la capacità inibitrice che può avere questa sostanza.

Studi recenti hanno dimostrato che il fitato, una sostanza di peso molecolare relativamente basso che è presente naturalmente nei liquidi fisiologici del nostro organismo (sangue, urina e fluidi interstiziali e intracellulari) [Bunce et al. 1993; Grases et al. 1996c], presenta una capacità inibitrice straordinaria per la litiasi calcica, con un effetto molto più importante di quello del citrato [Grases et al. 2000b; Grases & Llobera 1998b].

Per quel che riguarda la litiasi urica, le sostanze con maggiore azione inibitrice sono le glicoproteine, gli glicosaminoglicani e sostanze come l'escina, l'acido glicirretinico e il laurilsolfato. Bisogna precisare che il fitato non ha azione inibitrice su questo tipo di litiasi [Grases et al. 1999].

La cristalluria è tutt'altro che un sinonimo di calcoli. La presenza di cristalli nelle urine corrisponde a un episodio pericoloso della sovrassaturazione urinaria ma che non necessariamente è collegata alla formazione di calcoli. La formazione di un gran numero di cristalli nelle urine non significa che rimarranno nel sito di biomineralizzazione ma spesso vengono "lavati" via e quindi allontanati.

La cristalluria è stata riscontrata sia in persone sane che in soggetti affetti da nefrolitiasi. Anche se in quest'ultimi la cristalluria è più frequente, non esiste ancora una diretta corrispondenza con la nefrolitiasi. L'utilizzo della cristalluria per predire la composizione dei calcoli è stata proposta da Cohen et al. [1992] confrontando i frammenti di calcoli post-litotrissia e la cristalluria urinaria osservata prima del trattamento. E' possibile però solo differenziare le specie chimiche (ossalato senza distinzione tra whewellite e weddellite) e i calcoli puri da quelli misti. Questi ultimi sono identificati anche perché non risultano ben frammentati a causa di una diversa risposta al bombardamento delle diverse fasi cristalline presenti.

Siamo ancora lontani per poter definire la cristalluria il metodo di valutazione del rischio di nefrolitiasi soprattutto perché l'analisi dei cristalli urinari non è ancora una pratica standardizzata sia per le tecniche analizzate (la microscopia ottica è la tecnica ancora più utilizzata), sia per la tipologia di urine campionate ed i metodi di conservazione.

I fattori morfo-anatomici hanno un ruolo importante nella formazione

dei calcoli urinari [Schulz et al. 1989a, 1989b] almeno quanto la composizione dell'urina (fig. 1.11).

Considerando il meccanismo di formazione dei calcoli si può concludere che una situazione di rischio si instaura quando l'epitelio della papilla renale risulta danneggiato (a seguito di una qualsiasi disfunzione cellulare, attacco esterno o calcificazione intrapapillare) in modo da permettere la formazione del cuore primario sopra il quale si formerà il calcolo.

Tutti i calcoli papillari presentano un punto di contatto con la papilla, molto ben evidente.

Anche la presenza di cavità renali sono una condizione di rischio per la calcogenesi.

In queste cavità, l'elevato tempo di residenza dell'urina favorisce l'accumulo e sedimentazione di particelle solide permettendo la formazione del nucleo primario sopra il quale si svilupperà il calcolo.

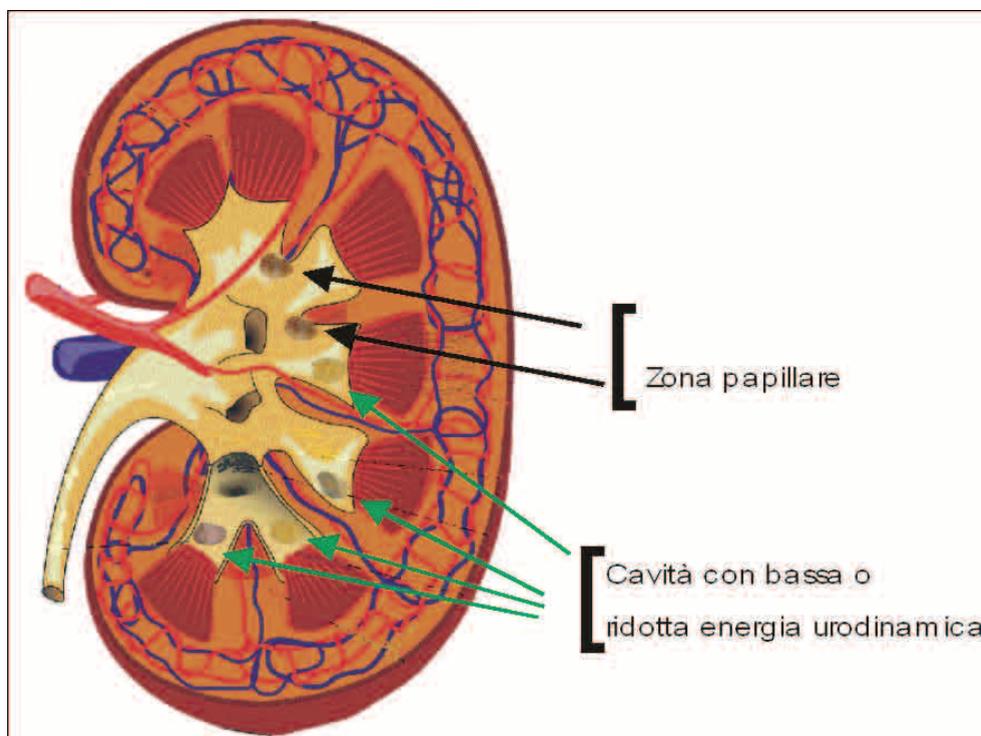


Figura 1.11 Morfologia del rene con indicazione dei comuni siti di biomineralizzazione
Kidney morphology plus common biomineralization sites

FATTORI DEMOGRAFICI

È ben noto che la frequenza della nefrolitiasi, oltre a variare sensibilmente da Paese a Paese, si presenta in maniera difforme da Regione a Regione al variare delle condizioni ambientali e per il modificarsi delle condizioni di familiarità, di professione, dell'alimentazione, dello stato sociale e così via.

Tutto ciò da un lato porta a difficoltà negli interventi di prevenzione, dall'altro rende più stimolante la ricerca di fattori favorenti la formazione dei calcoli nelle vie urinarie.

La nefrolitiasi è più diffusa tra gli uomini che tra le donne [Robertson et al. 1983; Scott et al. 1977; Serio & Fraioli 1999] ed entro una fascia di età compresa tra i 30 ed i 60 anni [Johnson et al. 1979]. Non è ancora chiaro il perché di questa differenza di genere, una delle ipotesi potrebbe essere che le donne hanno una maggiore concentrazione di citrati nelle urine, che agiscono come forti inibitori [Fan et al. 1999; Parks & Coe 1986].

L'ereditarietà della patologia è anche uno degli importanti fattori di predisposizione genetica alla calcolosi. La presenza di alcuni geni, tramandabili da genitori a figli, regolano l'assorbimento e la sintesi del calcio e degli ossalati nell'organismo [Curhan et al. 1997a; Ljunghall et al. 1985; Wasserstein et al. 1987].

L'incidenza della calcolosi varia anche con la razza all'interno dello stesso stato. Le popolazioni africane sembrano avere una naturale immunità da questa malattia [Modlin 1967; Muskat 1951]. Anche altre razze sembrano avere una minore incidenza da calcolosi rispetto alla razza bianca, come gli eschimesi, gli aborigeni e gli afroamericani [Bateson 1977; Rodgers 1991].

FATTORI AMBIENTALI E COMPORTAMENTALI

Tutti i fattori citati sono definiti fattori di rischio demografico e rappresentano solo uno dei gruppi di determinanti la nefrolitiasi. Nel tempo hanno assunto una grande importanza i fattori definiti ambientali e comportamentali [Schwille et al. 1992].

L'organismo umano interagisce con i fattori ambientali, sia che questi siano riferiti all'ambiente in generale, sia che invece siano limitati a luoghi confinati.

Fattori ambientali in generale sono quelli legati alla personale condizione di vita, del tipo: località geografica e relativo clima, residenza, fattori abitativi (caratteristiche degli stabili e del quartiere).

Fanno parte dei fattori di rischio ambientale parametri riferiti al clima, alla qualità delle acque e del suolo, ad agenti fisici e chimici propri dell'inquinamento urbano come radiazioni, elementi chimici tossici e/o potenzialmente nocivi.

Nell'ambiente di lavoro invece i parametri di rischio sono legati a fattori conseguenti alle caratteristiche strutturali dell'ambiente, alle condizioni microclimatiche, alla presenza di agenti fisici e chimici presenti nel ciclo di lavoro, infine alla tipologia lavorativa particolare.

I fattori microclimatici ambientali che condizionano l'ambiente di lavoro sono: temperatura dell'aria, umidità relativa in ambiente, ventilazione, intensità dell'impegno fisico (dispendio energetico), abbigliamento (impedenza termica del vestiario). Tali fattori inducono nell'uomo una serie di risposte biologiche graduate.

La prevalenza di nefrolitiasi mostra considerevoli differenze in relazione alla posizione geografica [Chen et al. 2000; Hesse et al. 2003; Komatina 2004; Lee et al. 2002].

Da dati del 1993-1994, in Italia risulta un tasso di prevalenza più elevato nel meridione e nelle isole, nella media per la parte centrale e valori molto più bassi per il settentrione (circa la metà del tasso corrispondente al meridione) [Serio & Fraioli 1999].

Negli Stati Uniti la differenza tra aree è ancora più netta in relazione a forti differenze climatiche.

Una più alta temperatura media registrata nelle regioni meridionali porta ad una sensibile diminuzione del volume delle urine. In più una maggiore esposizione ai raggi solari porta ad una maggiore produzione di vitamina D con il risultato di avere un incremento dell'assorbimento di calcio nel tratto gastrointestinale ed un aumento nelle urine [Curhan et al. 1994; Parry et al. 1975].

I fattori climatici, ed in particolare la temperatura, rientrano tra le concause di nefrolitiasi per i motivi già citati, e sono stati ampiamente studiati in varie aree. Esiste, anche, una significativa variazione stagionale nella presenza di calcoli, con un incremento del 50% dei casi nei mesi estivi rispetto a quelli invernali, variazione attribuita ad un decremento del volume delle urine ma anche ad un cambio di composizione [Robertson et al. 1974, 1975].

Il tasso di prevalenza di nefrolitiasi varia anche in relazione al livello di educazione scolastica e della professione. La prevalenza è alta tra le persone prive di educazione scolastica o con un livello basso [Serio & Fraioli 1999]. Le professioni più a rischio sono quelle che prevedono di assumere, per lunghi periodi di tempo, posizioni sedentarie o di sostare in ambienti surriscaldati, quest'ultimi per le stesse motivazioni viste per i fattori climatici [Borghi et al. 1993; Ferrie & Scott 1984; Zheng et al. 2002].

Tra i fattori di rischio comportamentali rientrano le abitudini alimentari [Goldfarb et al. 2005]. Se per alcuni cibi e bevande è ormai chiaro che favoriscono

lo sviluppo di calcoli, per altri si richiedono studi di approfondimento.

Le persone che soffrono di nefrolitiasi dovrebbero bere molto (l'acqua diluisce i minerali, che vengono così espulsi molto più facilmente assieme alle urine) e limitare l'assunzione di alimenti molto ricchi dei tre elementi fondamentali costituenti dei calcoli e cioè calcio, fosforo e ossalati.

Alcuni studi hanno dimostrato che una dieta ricca in carne conduce più frequentemente allo sviluppo di calcoli. A causa dell'eccessivo consumo di proteine l'urina diviene più acida ed aumenta la quota d'eliminazione di ossalati, calcio e acido urico, mentre si abbassa quella dei citrati (sostanze che impediscono la precipitazione di questi sali; Pak 1987). In questo caso va invece incoraggiata l'assunzione di alcalinizzanti urinari come il citrato di potassio o il bicarbonato di sodio [Robertson et al. 1981].

Essendo ricchi di metionina (un aminoacido precursore della cistina) i prodotti ricchi di proteine andrebbero limitati anche in presenza di calcoli renali di origine cistinica.

Il ruolo del calcio nella formazione dei calcoli è stato da sempre oggetto di numerosi studi e ricerche. In passato era particolarmente diffusa la convinzione che una dieta priva o estremamente povera di latte e derivati fosse una valida arma nei confronti delle recidive [Bellizzi et al. 1999; Drach 1986].

Oggi si è giunti alla conclusione che una dieta ricca di calcio non solo non predispone alla calcolosi delle vie urinarie ma la previene riducendo l'assorbimento di ossalato di calcio [Curhan et al. 1993, 1997a]. Viene perciò raccomandato un apporto giornaliero di 1200 mg di calcio di cui 800 mg forniti da latticini [Curhan et al. 1994], per non incorrere nel problema opposto [Curhan et al. 1997b].

Un eccesso di ossalato si è invece dimostrato particolarmente dannoso in quanto fattore predisponente alla formazione di calcoli (specie se accompagnato ad un ridotto consumo di liquidi). L'ossalato è ubiquitario (si trova un po' dappertutto), ma alcuni alimenti ne sono particolarmente ricchi: cioccolata, nocciole, coca-cola e bevande gassate in genere, succhi di frutta, the, cavoli, piselli, asparagi, spinaci e rabarbaro [Brinkley et al. 1990].

Gli ossalati sono acidi grassi che si legano ai sali minerali, soprattutto al calcio, impedendone l'assorbimento e formando composti insolubili (gli ossalati di calcio, appunto) che tendono ad accumularsi [Borsatti 1991; Curhan et al. 1993].

Bisogna comunque sottolineare che in caso di iperproduzione fisiologica di ossalato, ridurre il consumo di questi alimenti previene i calcoli renali, ma lo fa soltanto in maniera marginale. Ciò che conta, ancora una volta, non è tanto l'introduzione assoluta di ossalati quanto la relativa quantità di liquidi presenti nella dieta.

In presenza di calcoli delle vie urinarie è consigliata una dieta ricca di fibre in quanto l'acido fitico contenuto negli alimenti di origine vegetale (verdura, frutta e cereali integrali) si lega con il calcio formando composti insolubili e non assorbibili. Frutta e verdura aumentano inoltre l'eliminazione di citrati, sostanze molto efficaci nell'impedire la formazione dei calcoli. Per questo motivo il succo di limone, che contiene circa il 5-7% di acido citrico, è l'alimento ideale per chi soffre di calcoli renali [Curhan et al. 1996; Seltzer et al. 1996].

Secondo alcuni autori gli alimenti ricchi di potassio (fagioli, albicocche, piselli, patate, aglio e frutta secca) ridurrebbero l'escrezione urinaria di calcio senza interferire con l'assorbimento intestinale dello ione, come anche una corretta dose di magnesio ha benefici effetti sulla calcolosi per i suoi effetti inibitori [Rodgers 1997].

Tutta la letteratura scientifica è concorde nel ritenere che è importante valutare la quantità di acqua, e più in generale di liquidi, assunti con la dieta (brodo, tisane, succhi di frutta, etc). Le persone predisposte ai calcoli renali dovrebbero pertanto sforzarsi di bere abbondantemente e ripetutamente nel corso della giornata (almeno 2 litri di acqua) [Messa et al. 1997; Leonetti et al. 1988; Hesse et al. 1993].

In particolare, però, oltre che la quantità complessiva di liquidi è importante scegliere la qualità giusta. Vanno evitate, per esempio, alcune bevande come il thè concentrato (ricco di ossalati), coca cola (molto acida; Rodgers 1999) ed alcolici (innalzano i livelli d'escrezione dell'acido ossalico e dell'acido urico; Vahlensieck 1986), mentre sono favorite le spremute di mela ed il thè verde [Hesse et al. 1993; Vahlensieck 1986].

Per ciò che concerne la tipologia di acqua, nonostante alcuni studi recenti abbiano dimostrato che anche le acque minerali ricche di calcio possono costituire un fattore protettivo [Ackermann et al. 1988; Rodgers 1997], in presenza di calcolosi si consiglia l'utilizzo di acque minimamente mineralizzate che, in quanto povere di sali minerali, favoriscono la diuresi e facilitano l'espulsione di piccoli calcoli renali [Curhan et al. 1993, 1997a, 1997b].

Il dibattito è ancora aperto [Borghi et al. 1996; Candarella et al. 1998; Churchill et al. 1978] e la questione sembra essere legata anche al tempo di assunzione dell'acqua cioè se è correttamente ripartita nell'arco della giornata [Bellizzi et al. 1999; Marangella et al. 1996].

Esistono anche altri fattori di rischio per lo sviluppo di calcoli legati alla presenza di altre malattie. Questi fattori vengono definiti fisiopatologici. Ad esempio, in caso di ipertensione a causa di una dieta ricca di sale, aumenta l'escrezione urinaria di calcio favorendo la formazione dei calcoli renali.

Patologie come l'ipercalcemia (eccesso di calcio nel sangue) e l'ipercalciuria (eccesso di calcio nelle urine), favorite entrambe anche da un eccesso di vitamina D nella dieta perché favorisce l'assorbimento intestinale di calcio, sono legate alla calcolosi. Tale evenienza potrebbe verificarsi in un paziente che assume regolarmente integratori di calcio e vitamina D per combattere o prevenire, ad esempio, l'osteoporosi.

Un aumento delle dimensioni corporee favorisce un maggior accumulo di calcio, ossalati e acido urico nelle urine, cosa che incrementa il rischio di formazione di calcoli [Ekeruo et al. 2004].

1.4 BIBLIOGRAFIA

- Ackermann D, Baumann JM, Futterlieb A & Zingg EJ (1988). Influence of calcium content in mineral water on chemistry and crystallization conditions in urine of calcium stone formers. *Eur Urol.* 14: 305-308.
- Babic-Ivancic V, Furedi-Milhofer, Brown WE & Gregory TM (1987). Precipitation diagrams and solubility of uric acid dihydrate. *J Cryst Growth* 83: 581-587.
- Baggio B (1999). Genetic and dietary factors in idiopathic calcium nephrolithiasis. What do we have, what do we need?. *J Nephrol* 12: 371-374.
- Bateson EM (1977). Do Australian Aborigines suffer from renal tract calculi? *Aust NZ J Med.* 7: 381-381.
- Bellizzi V, De Nicola L & Minutolo R (1999). Effects of water hardness on urinary risk factors for kidney stones in patients with idiopathic nephrolithiasis. *Nephron.* 81(suppl. 1): 66-70.
- Bigi A, Foresti E, Gregorini R, Ripamonti A, Roveri N & Shah JS (1992). The role of magnesium on the structure of biological apatites. *Calcif Tissue Int,* 50: 439-444.
- Bigi A, Cojazzi G, Panzavolta S, Ripamonti A, Roveri N, Ravello M, Noris Suarez K & Moro L (1997). Chemical and structural characterization of the mineral phase from cortical and trabecular bone. *J Inorg Biochem.* 68: 45-51.
- Bliznakov G (1965). Sur le mecanisme de l'action des additifs adsorbants dans la croissance cristalline. En: *Adsorption et Croissance Cristalline*, pp 291-301. Centre National de la Recherche Scientifique, Paris.
- Borghi L, Meschi T, Amato F, Novarini A, Romanelli A & Cigala F (1993). Hot occupation and nephrolithiasis. *Journal of Urology* 150: 1757-1760.
- Borghi L, Meschi T, Amato F, Briganti A, Novarini A & Giannini A (1996). Urinary volume, water and recurrences in idiopathic calcium nephrolithiasis: a 5-year randomized prospective study. *Journal of Urology* 155: 839-843.
- Borsatti A (1991). Calcium oxalate nephrolithiasis: defective oxalate transport. *Kidney Int.* 39: 1283-1298.
- Boskey AL & Poster AS (1974). Magnesium stabilization of amorphous calcium phosphate: A kinetic study. *Mater Res Bull.* 9: 907-916.
- Boskey AL (1981). Current concepts of the physiology and biochemistry of calcification. *Clin. Orthop. Rel. Res.* 157: 225-257.
- Brinkley LJ, Gregory J & Pak CYC (1990). A further study of oxalate bioavailability in foods. *J Urol.* 144: 94-96.
- Brown CM, Ackerman DK, Purich DL & Finlayson B (1991). Nucleation of calcium oxalate monohydrate: use of turbidity measurements and computer-

- assisted simulations in characterizing early events in crystal formation. *J Cryst Growth* 108: 455-464.
- Bunce CM, French PJ, Allen P, Mountford JC, Moor B, Greaves MF, Michel RH & Brown G (1993). Comparison of the levels of inositol metabolites in transformed haemopoietic cells and their normal counterparts. *Biochem J* 289:667-673.
 - Bushinsky DA, Parker WR & Asplin JR (2000). Calcium phosphate supersaturation regulates stone formation in genetic hypercalciuric stone-forming rats. *Kidney Int* 57, 550-560.
 - Candarella R, Rizzoli E, Buffa A, Bottura A & Stefoni S (1998). Comparative study of the influence of 3 types of mineral water in patients with idiopathic calcium lithiasis. *J Urol.* 159: 658-663.
 - Chandhoke PS & May DJ (1996). *Proc VII Int Symp Urol*, p 50. Dallas.
 - Chen Y, Roseman JM, Devivo MJ & Huang C (2000). Geographic variation and environmental risk factors for the incidence of initial kidney stones in patients with spinal cord injury. *Journal of urology* 164: 21-26.
 - Churchill D, Bryant D, Fodor G & Gault MH (1978). Drinking water hardness and urolithiasis. *Ann Inter Med.* 88: 513-514.
 - Cifuentes LD (1984). *Composición y estructura de los cálculos renales*. Salvat, Barcelona.
 - Cohen NP, Parkhouse H, Scott ML, Bowsher WG, Crocker P & Whitfield HN (1992). Prediction of response to lithotripsy - the use of scanning electron microscopy and X-ray energy dispersive spectroscopy. *Br. J. Urol.* 70, 469-473.
 - Conte A, Genestar C & Grases F (1990). Relation between calcium oxalate hydrate form found in renal calculi and some urinary parameters. *Urol Int* 45: 25-27.
 - Costanzo LS (1998). *Fisiología*, pp 419-427. McGraw-Hill Interamericana, México.
 - Curhan GC, Willett WC, Rimm EB & Stampfer MJ (1993). A prospective study of dietary calcium and other nutrients and the risk of symptomatic kidney stones. *N Engl J Med* 328: 833-838.
 - Curhan GC & Curhan SG (1994). Dietary factors and kidney stone formation. *Compr Ther.* 20: 485-489.
 - Curhan GC, Willett WC, Rimm EB, Spiegelman D & Stampfer MJ (1996). Prospective study of beverage use and the risk of kidney stones. *Am J Epidemiol.* 143: 240-247.
 - Curhan GC, Willett WC, Rimm EB & Stampfer MJ (1997a). Family History

- and Risk of Kidney Stones. *J Am Soc Nephro* 18: 1568-1573.
- Curhan GC, Willet WC, Speizer FE, Spiegelman D & Stampfer MJ (1997b). Comparison of dietary calcium with supplemental calcium and other nutrients as factors affecting the risk for kidney stones in women. *Ann Inter Med.* 126: 497-504.
 - Daculsi G, Bouler JM & LeGeros RZ (1997). Adaptive crystal formation in normal and pathological calcifications in synthetic calcium phosphate and related biomaterials. *International Review of Cytology* 172: 129-191.
 - Daudon M, Bader CA & Jungers P (1993). Urinary calculi: review of classification methods and correlations with etiology. *Scanning Microscopy* 7, 1081-1106.
 - Desnos EC (1972). The history of urology up to the latter half of the nineteenth century. En: *The history of urology.* Murphy LJT, Springfield.
 - Devlin TM (1986). *Bioquímica*, pp 735-740. Reverté, Barcelona, España.
 - Dove PM, De Yoreo JJ & Weiner S (eds) (2003). *Biom mineralization. Reviews in Mineralogy and Geochemistry* 54.
 - Drach GW (1986). Urinary lithiasis. In: Walsh P.C., Gittes R.F., Plummer A.D., Stamey T.A. (eds). *Campbell's Urology*, ed. 5. Philadelphia, Saunders: 1094-1190.
 - Ekeruo WO, Yen Hong Tan, Young MD, Dahm P, Maloney ME, Mathias BJ, Albala DM & Preminger GM (2004). Metabolic risk factors and the impact of medical therapy on the management of nephrolithiasis in obese patients. *The Journal Of Urology* 172: 159-163.
 - Elliot JS (1973). Structure and composition of urinary calculi. *J Urol* 109: 82-83.
 - Elliott JC (2002). Biom minerals – overview. *Reviews in mineralogy and geochemistry* 48: 427-453.
 - Fan J, Chandhoke PS & Graampas SA (1999). Role of sex hormones in experimental calcium oxalate nephrolithiasis. *J Am Soc Nephrol.* 10: 376-380.
 - Ferrie BG & Scott R (1984). Occupation and urinary tract stone disease. *Urology* 24: 443-445.
 - Finlayson B (1978a). Physicochemical aspects of urolithiasis. *Kidney Int* 13: 344-360.
 - Finlayson B & Reid F (1978b). The expectation of free and fixed particles in urinary stone disease. *Invest Urol* 15: 442-448.
 - Fleisch H & Bisaz S. (1964). The inhibitory effect of pyrophosphate on calcium oxalate precipitation and its relation to urolithiasis. *Experientia* 20: 276-280.

- Friberg L, Kjellstrom T, Nordberg GF & Piscator M (1975). Cadmium in the environment. III. A toxicological and epidemiological appraisal, US Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, Washington, D.C.: pp. 217.
- Galán JA, Conte A, Llobera A, Costa-Bauzá A & Grases F (1996). A comparative study between etioloical factors of calcium oxalate monohydrate and calcium oxalate dihydrate urolithiasis. *Urol Int* 56: 79-85.
- Gault MH, Chafe LL, Morgan JM, Parfrey PS, Harnett JD, Walsh EA, Prabhakaran VM, Dow D & Colpitts A (1991). Comparison of patients with idiopathic calcium phosphate and calcium oxalate stones. *Medicine (Baltimore)* 70, 345-359.
- Gill WB, Jones KW & Ruggiero KJ (1982). Protective effects of heparin and other sulfated glycosaminoglycans on crystal adhesion to injured urothelium. *J Urol* 127, 152-154.
- Goldfarb DS, Fischer ME, Keich Y & Goldberg J (2005). A twin study of genetic and dietary influences of nephrolithiasis: a report from the Vietnam Era Twin (VET) Registry. *Kidney International* 67: 1053-1061.
- Grases F, Genestar C & Millán A (1989a). The influence of some metallic ions and their complexes on the kinetics of crystal growth of calcium oxalate. *J Cryst Growth* 94, 507-594.
- Grases F & March P (1989b). A study about some phosphate derivatives as inhibitors of calcium oxalate crystal growth. *J Cryst Growth* 96: 993-995.
- Grases F, Millán A & Conte A (1990). Production of calcium oxalate monohydrate, dehydrate or trihydrate. A comparative study. *Urol Res*; 18: 17-20.
- Grases F & Conte A (1992a). Urolithiasis, inhibitors and promoters. *Urol Res* 20:86-88.
- Grases F, Masárová L, Söhnel O & Costa-Bauzá A (1992b). Agglomeration of calcium oxalate monohydrate in synthetic urine. *Br J Urol* 70:240-246.
- Grases F, Millán A & Söhnel O.(1992c). Role of agglomeration in calcium oxalate monohydrate urolith development. *Nephron* 61:145-150.
- Grases F, Costa-Bauzá, A & Conte A (1993a). Studies on structure of calcium oxalate monohydrate renal papillary calculi. Mechanism of formation. *Scanning Microsc* 7: 1067-1074.
- Grases F, March JG, Conte A & Costa-Bauzá A (1993b). New aspects on the composition structure and origin of the calcium oxalate monohydrate calculi. *Eur Urol* 24, 381-386.
- Grases F, Kroupa M & Costa-Bauzá A (1994a). Studies on calcium oxalate

- monohydrate crystallization: influence of inhibitors. *Urol Res* 22: 39-43.
- Grases F, Costa-Bauzá A, March JG & Söhnle O (1994b). Artificial simulation of renal stone formation. Study of the early stages. *Br J Urol* 74: 298-301.
 - Grases F, García-Ferragut L, Costa-Bauzá A & March JG (1996a). Study of the effects of different substances on the early stages of papillary stone formation. *Nephron* 73: 561-568.
 - Grases F, García-Ferragut L & Costa-Bauzá A (1996b). Study of the early stages of renal formation: experimental model using urothelium of pig urinary bladder. *Urol Res* 24: 305-311.
 - Grases F & Llobera A (1996c). Determination of phytic acid in urine by ICP Atomic Emission Spectrometry. *Anal Letts* 29: 1193-1199.
 - Grases F, Costa-Bauzá A & García-Ferragut L (1998a). Biopathological crystallization: a general view about the mechanisms of stone formation. *Adv Colloid Interface Sci* 74: 169-194.
 - Grases F & Llobera A (1998b). Experimental model to study sedimentary kidney stones. *Micron* 29: 105-111.
 - Grases F, Söhnle O & Costa-Bauzá A (1999). Renal stone formation and development. *Int Urol Nephrol* 31, 591-600.
 - Grases F, Villacampa AI, Costa-Bauzá A & Söhnle O (2000a). Uric acid calculi: types, etiology and mechanisms of formation. *Clin Chim Acta* 302: 89-104.
 - Grases F, Ramis M & Costa-Bauzá A (2000b). Effects of phytate and pyrophosphate on brushite and hydroxyapatite crystallization. Comparison with the action of other polyphosphates. *Urol Res* 28: 136-140.
 - Grases F, Costa-Bauzá A, Ramis M, Montesinos V & Conte A (2002). Simple classification of renal calculi closely related to their micromorphology and etiology. *Clin Chim Acta* 322: 29-36.
 - Gross KA & Berndt CC (2002). Biomedical application of apatite, in: Kohn, M.J., Rakovan, J., Hughes, J.M. (eds). *Phosphates: Geochemical, geobiological and material importance, Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, vol. 48. Mineralogical Society of America, Washington, DC: pp. 631-672.
 - Heilberg IP & Schor N (2006). Renal stone disease: causes, evaluation and medical treatment. *Arq Bras Endocrinol Metab* 50, 823-831.
 - Hess B (2003). Pathophysiology, diagnosis and conservative therapy in calcium kidney calculi. *Ther Umsch* 60: 79-87.
 - Hesse A, Schneider HJ, Berg W & Hienzsch E (1975). Uric acid dihydrate as urinary calculus component. *Invest Urol* 12:405-409.
 - Hesse A, Berg W & Bothor C (1979). Scanning electron microscopic investigations on the morphology and phase conversions of uroliths. *Int*

Urol Nephrol 11: 11-20.

- Hesse A, Siener R, Heynek H & Jähnen A (1993). The influence of dietary factors on the risk of urinary stone formation. *Scanning Microsc.* 7: 1119-1128.
- Hesse A, Brandle E, Wilbert D, Kohrmann KU & Alken P (2003). Study on the prevalence and incidence of urolithiasis in Germany comparing the years 1979 vs. 2000. *European urology* 44(6): 709-713.
- Iwata H, Nishio S, Wakatsuki A, Ochi K & Takeuchi M (1985). Architecture of calcium oxalate monohydrate urinary calculi. *J Urol* 133: 334-338.
- Johnson CM, Wilson DM, O'Fallon WM, Malek RS & Kurland LT (1979). Renal stone epidemiology: a 25-year study in Rochester, Minnesota. *Kidney Int.* 16: 624-631.
- Jones AG (1989). Agglomeration during crystallization and precipitation from solution. En: 5th Int Symp Agglomeration (Cross M, Oliver R, eds.), p 131. Inst Chem Eng, Rugby.
- Kemenade MJJM van & Bruyn PL (1987). A kinetic study of precipitation from supersaturated calcium phosphate solutions. *J Colloid Interface Sci* 118: 564-585.
- Khan SR (1997). Interactions between stone-forming calcific crystals and macromolecules. *Urol. Int.* 59: 59-71.
- Kim MK (1982). The stones. *Scanning Electron Microsc* 4: 1634-1660.
- Komatina MM (2004). *Medical Geology: Effects of geological environments on human health.* Elsevier: pp. 488.
- Låg J (1990). General Survey of Geomedicine. In: Låg J (ed). *Geomedicine,* CRC Press, Boca Raton: pp. 1-24.
- Lee YH, Huang WC, Tsai JY, Lu CM, Chen WC, Lee MH, Hsu HS, Huang JK & Chang LS (2002). Epidemiological studies on the prevalence of upper urinary calculi in Taiwan. *Urologia internationalis* 68(3): 172-177.
- LeGeros RZ (1991). Calcium phosphates in oral biology and medicine, in: Myers, H.M. (ed.), *Monographs in oral science,* Karger publishing, New York, NY.
- LeGeros RZ (1999). Calcium Phosphates in Demineralization/Remineralization Processes. *J. Clin. Dent.* 10: 65-73.
- LeGeros RZ, LeGeros JP, Kim Y, Kijkowska R, Zheng R, Bautista C & Wong JL (1995). Calcium phosphates in plasma-sprayed HA coatings. *Ceramic Trans.* 48: 173-189.
- Leonetti F, Dussol B, Bethézène P, Thirion X & Berland Y (1998). Dietary and urinary risk factors for stones in idiopathic calcium stone formers compared

- with healthy subjects. *Nephrology dialysis transplantation* 13(3): 617-622.
- Leusmann DB (1991). A classification of urinary calculi with respect to their composition and micromorphology. *Scand J Urol* 25: 141-150.
 - Li MK, Blacklock NJ & Garside J (1985). Effects of magnesium on calcium oxalate crystallization. *J Urol* 133: 123-125.
 - Lieske JC, Norris R, Swift H & Toback FG (1997). Adhesion, internalization and metabolism of calcium oxalate monohydrate crystals by renal epithelial cells. *Kidney Int* 52, 1291-1301.
 - Ljunghall S, Danielson BG, Fellstrom B, Holmgren K, Johansson G & Wikstrom B (1985). Family history of renal stones in recurrent stone patients. *Br J Urol* 57:370-374.
 - Lowenstam HA & Weiner S (1989). *On biomineralization*. Oxford University Press, New York, 324 pp.
 - Lowenstam HA & Margulis L (1980). Calcium regulation and the appearance of calcareous skeletons in the fossil record. In: *The mechanisms of biomineralization in animals and plants*. Omori, M., Watabe, N. (eds). Tokai University Press, Tokyo: 289-300.
 - Mann S (2001). *Biomineralization, principles and concepts in bioinorganic material chemistry*. Oxford University Press, Oxford.
 - Manolagas SC & Olefski JM (1988). Metabolic bone and mineral disorders. En: *Contemporary Issues in Endocrinology and metabolism*, pp 13–33. Churchill Livingstone, New York, USA.
 - Marangella M, Vitale C, Petrarulo M, Rovera L & Dutto F (1996). Effects of mineral composition of drinking water on risk for stone formation and bone metabolism in idiopathic calcium nephrolothiasis. *Clin Sci*. 91: 313-318.
 - Menni Turbanti I (2002). I biominerali: fasi, ambienti e processi. *PLINIUS* 27: 160-171.
 - Messa P, Marangella M & Paganin L (1997). Different dietary calcium intake and relative supersaturation of calcium oxalate in the urine of patients forming renal stones. *Clin Sci*. 93: 257-263.
 - Meyer JL (1985). Relative importance of calcium phosphate urinary inhibitors. En: *Urolithiasis and related clinical research* (Schiwille PO, Smith LH, Robertson WG, Vahlensieck W, eds.), p 811. Plenum Press, New York.
 - Millán A, Grases F, Söhnle O & Krivánková I (1992). Semi-batch precipitation of calcium oxalate monohydrate. *Cryst Res Technol* 27: 31-39.
 - Miyahara T, Yamada H, Takeuchi M, Kozuka H, Kato T & Sudo H (1988). Inhibitory effects of cadmium on in vitro calcification of a clonal osteogenic cell, Mc3T3-E1. *Toxicol Appl Pharmacol*, 96: 52-59.

- Modlin M (1967). The aetiology of renal stone: a new concept arising from studies on a stone-free population. *Ann R Coll Surg WEngl.* 40: 155-178.
- Murata I, Hirono T, Saeki Y & Nakagawa S (1970). Cadmium enteropathy, renal osteomalacia (« Itai-itai » disease in Japan). *Bull Soc Int Chir*, 2: 34-42.
- Murphy BT & Pyrah LN (1962). The composition, structure, and mechanism of the formation of urinary calculi. *Br J Urol* 34: 129-159.
- Muskat DA (1951). The problem of nephrolithiasis with special reference to the Bantu. *S Afr J Clin Sci.* 2: 18-38.
- Nakai H, Yanagawa M, Kameda K, Ogura Y & Kawamura J (1996). *Proc VIII Int Symp Urol. Dallas.*
- Nancollas GH & Koutsoukos PG (1980). Calcium phosphate nucleation and growth in solution. *Prog Cryst Growth Charact* 3: 77-102.
- Nancollas GH, Smesso SA, Campbell AA, Coyle-Rees M, Ebrahimpour A, Binette M & Binette JP (1989). Mineralization inhibitors and promoters. In: Walker VR, Sutton RAL, Cameron ECB, Pak CYC, Robertson WG (eds) *Urolithiasis*. Plenum Press. New York London, pp. 83.
- Nriagu JO (1983). Tales told in Lead. *Science* 281: 1622-1623.
- Pak CYC (1987). Citrate and renal calculi. *Miner Electrolyte Metab* 13: 257-266.
- Parks JH & Coe FL (1986). A urinary calcium-citrate index for the evaluation of nephrolithiasis. *Kidney Int.* 30: 85-90.
- Parks JH, Worcester EM, Coe FL, Evan AP & Lingeman JE (2004). Clinical implications of abundant calcium phosphate in routinely analyzed kidney stones. *Kidney Int* 66, 777-785.
- Peacock M (2002). Primary hyperparathyroidism and the kidney: biochemical and clinical spectrum. *J Bone Miner Res* 17, 87-94.
- Pieras E, Costa-Bauzá A, Ramis M & Grases F (2006). Papillary and Nonpapillary calcium oxalate monohydrate renal calculi: comparative study of etiologic factors. *TSW Urology* 1, 116-124.
- Pierratos AE, Khalaff H, Cheng PT, Psihramis K & Jewett MA (1994). Clinical and biochemical differences in patients with pure calcium oxalate monohydrate and calcium oxalate dihydrate kidney stones. *J Urol* 151: 571-574.
- Posner AS (1985). The mineral of bone. *Clin. Orthop. Rel. Res.* 200: 87-99.
- Prien EL & Frondel C (1947). Studies in urolithiasis. I. The composition of urinary calculi. *J Urol* 57:949-994.
- Ramello A, Vitale C & Marangella M (2000). Epidemiology of nephrolithiasis. *Journal of nephology* 13: S45-S50.

- Robertson WG, Gallagher JC, Marshall DH, Peacock M & Nordin BEC (1974). Seasonal variations in urinary excretion of calcium. *British Medical J.* IV: 436-437.
- Robertson WG, Peacock M, Marshall RW, Speed R & Nordin BEC (1975). Seasonal variations in the composition of urine in relation to calcium stone-formation. *Clinical Science and Molecular Medicine* 49: 597-602.
- Robertson WG, Peacock M & Heyburn PJ (1981). The risk of calcium stone formation in relation to affluence and dietary animal protein. *Urinary Calculus.* Littleton, Massachusetts: 3-12.
- Robertson WG, Peacock M & Baker M (1983). Studies on the prevalence and epidemiology of urinary stone disease in men in Leeds. *Br J Urol* 55: 595-598.
- Rodgers AL (1991). Urinary calculi: (I) Epidemiology. *Update* 6: 18-31.
- Rodgers AL (1997). Effect of mineral water containing calcium and magnesium on calcium oxalate urolithiasis risk factors. *Urol Int.* 58: 92-99.
- Rodgers A (1999). Effect of cola consumption on urinary biochemical and physicochemical risk factors associated with calcium oxalate urolithiasis. *Urol Res.* 27: 77-81.
- Ryall RL (1997). Urinary inhibitors of calcium oxalate crystallization and their potential role in stone formation. *World J Urol* 15: 155-164.
- Ryall RL, Harnett RM & Marshall V R (1981). The effect of urine, pyrophosphate, citrate, magnesium and glycosaminoglycans on the growth and aggregation of calcium oxalate crystals in vitro. *Clin Chim Acta* 112: 349-156.
- Schneider HJ (1985). Urolithiasis: etiology. Diagnosis. En: *Handbook of urology* pp 137-145 Springer-Verlag, Berlin.
- Schulz E, Börner R, Brundig P & Mäurer F (1989a). Influence of different factors on the formation of calcium oxalate stones. I. Discriminant analytical computations of morphological parameters of the pelvic-calycela systems of calcium oxalate stone formers and controls. *Eur Urol* 16:212-217.
- Schulz E, Börner R, Brundig P & Mäurer F (1989b). Influence of different factors on the formation of calcium oxalate stones. II. Discriminant analytical computations of morphological parameters of pelvic-calyceal systems and clinicochemical urine parameters of control and calcium oxalate stone formers. *Eur Urol* 16: 218-222.
- Schwille PO & Herrmann U (1992). Environmental factors in the pathophysiology of recurrent idiopathic calcium urolithiasis (RCU), with emphasis on nutrition. *Urol Res.* 20: 72-83.

- Scott R (1985). Epidemiology of stone disease. *Br J Urol* 57: 491-497.
- Scott R, Freland R & Mowat W (1977). The prevalence of calcified upper urinary tract stone disease in random population – Cumberland health survey. *Br J Urol* 49: 589-595.
- Scurr DS & Robertson WG (1986) Modifiers of calcium oxalate crystallization found in urine: III. Studies on the role of Tamm Horsfall mucoprotein and of ionic strength. *J Urol* 136:505.
- See WA & Williams RD (1992). Urothelial injury and clotting cascade activation: common denominators in particulate adherence to urothelial surfaces. *J Urol* 147: 541-548.
- Seltzer MA, Low RK, McDonal M, Shami GS & Stoller ML (1996). Dietary manipulation with lemonade to treat hypocitraturia calcium nephrolithiasis. *J Urol*. 156: 907-909.
- Serio A & Fraioli A (1999). Epidemiology of nephrolithiasis. *Nephron*. 81(suppl 1): 26-30.
- Simkiss K & Wilbur K (1989). Biomineralization. Cell biology and mineral depositino. Academic Press, Inc., San Diego.
- Skinner WCH (1987). Bone: mineral and mineralization. In: Albright J.A., & Brand R. (eds) – *The scientific basis of orthopaedics*. 2nd ed. Norwalk (Conn): Appleton & Lange: 199-211.
- Skinner WCH (2000). Minerals and human health. *EMU Notes in Mineralogy* 2, cap. 11: 383-412.
- Skrtic D, Fürdi-Nilhofer H & Markovic M (1987). Precipitation of calcium oxalates from high ionic strength solutions. V. The influence of precipitation conditions and some additives on the nucleating phase. *J Cryst Growth* 80: 113-120.
- Söhnel O, Grases F & March JG. (1993). Experimental technique simulating oxalocalcic renal stone generation. *Urol Res* 21:95-99.
- Söhnel O & Grases F (1995). Calcium oxalate monohydrate renal calculi. Formation and development mechanism. *Adv Colloid Interface Sci* 59, 1-17.
- Sojka JE & Weaver CM (1995). Magnesium supplementation and osteoporosis. *Nutrition Reviews*, 53: 71-74.
- Staessen JA, Roels HA, Emalianov D, Kuznetsova T, Thijs L, Vangronsveld J & Fagard R (1999). Environmental exposure to cadmium, forearm density, and risk of fractures: prospective population study. *Lancet*, 353: 1140-1144.
- Thompson JB, Kindt JH, Drake B, Hansma HG, Morse DE & Hansma PK (2001). Bone indentation recovery time correlates with bond reforming time. *Nature* 414: 773-776.

- Trueman CN & Tuross N (2002). Trace elements in recent and fossil bone apatite. In: Kohn M.J., Rakovan J., & Hughes J.M. (eds) – Phosphates: geochemical, geobiological and material importance. *Reviews in mineralogy and geochemistry* 48: 455-488.
- Tsuchiya K (1978). Cadmium studies in Japan: a review. Amsterdam, North Holland.
- Uribarri J, Oh M & Carroll HJ (1989). The first kidney stone. *Ann Int Med* 111: 1006-1009.
- Vaananen HK (1991). Pathogenesis of osteoporosis. *Calcif Tissue Int*, 49: S11-S14.
- Vahlensieck W (1986). Review: the importance of diet in urinary stones. *Urol Res.* 14: 283-288.
- Veis A (2003). Mineralization in organic matrix frameworks. *Rev. Mineral Geochem.* 54: 249-289.
- Wasserstein AG, Stolley PD, Soper KA, Goldfarb S, Maislin G & Agus Z (1987). Case-control study of risk factors for idiopathic calcium nephrolithiasis. *Miner Electrolyte Metab* 13: 85-95.
- Wopenka B & Pasteris JD (2005). A mineralogical perspective on the apatite in bone. *Materials science & engineering c-biomimetic and supramolecular systems* 25 (2): 131-143.
- World Health Organization (WHO) (2006). Guidelines for drinking water quality [electronic resource]: incorporating first addendum. Vol. 1, Recommendations. – 3rd ed. World Health Organization, Geneva.
- Zheng W, Beiko DT, Segura JW, Preminger GM, Albala DM & Denstedt JD (2002). Urinary calculi in aviation pilots: what is the best therapeutic approach? *J Urol.* 168: 1341-1343.

CAPITOLO 2

L'INFLUENZA AMBIENTALE SULLA NEFROLITIASI IN BASILICATA

2.1 EPIDEMIOLOGIA DELLA NEFROLITIASI

L'epidemiologia ha un ruolo importante nel riconoscimento dei danni per la salute derivanti da esposizioni ambientali, nella valutazione del loro impatto sanitario e nella verifica della efficacia dei programmi di bonifica ambientale [Nielsen & Jensen, 2005].

Il fine ultimo di uno studio epidemiologico è quello di fornire gli strumenti per la valutazione della diffusione nel territorio nazionale di rischi per la salute di origine ambientale già noti per i quali è indispensabile mettere in atto interventi di prevenzione e bonifica oltre che fornire informazioni aggiuntive sui fattori di rischio per i quali la conoscenza scientifica non è ancora consolidata.

Le correlazioni tra fattori geo-ambientali ed alcune patologie, non sempre sono note o sufficientemente approfondite, è il caso della nefrolitiasi (sviluppo di calcoli renali).

La prevalenza di nefrolitiasi varia in modo significativo da paese a paese. I dati disponibili in letteratura indicano che la prevalenza di nefrolitiasi varia dall'1% al 15% in tutto il mondo, come mostrato di seguito:

Stato	Fonte	Prevalenza %
ITALIA	Trinchieri et al. 1998	10.1
	Serio & Fraioli 1999	1.7
GERMANIA	Hesse 1988	5.4
	Hesse et al. 1981	4
	Vahlensieck et al. 1982	3.8
EUROPA EST	Tucek 1995	5.95
PORTOGALLO	Reis Santos 1995	8.3
GRAN BRETAGNA	Robertson et al. 1983	3.8
TURCHIA	Akinci et al. 1991	14.8
AUSTRIA	Joost et al. 1980	4.8
CANADA	Churchill et al. 1980	15.5
GIAPPONE	Yoshida & Okada 1990	5.4
USA	Hiatt et al. 1982	1.1 – 5.9
	Curhan & Curhan 1994a	6.6 – 9.2

Sulla base di questi studi, lo sviluppo di calcoli renali non si manifesta con molta frequenza prima dei 20 anni, mentre l'incidenza cresce tra i 20 ed i 30 anni per raggiungere la massima diffusione fino ai 70 anni, dopo i quali sembra

decreocere nuovamente. Gli uomini sono da due a quattro volte più esposti al rischio di nefrolitiasi rispetto alle donne [Robertson et al., 1983; Scott et al., 1977; Serio & Fraioli, 1999].

Anche la tipologia di calcolo renale risulta essere differente tra uomini e donne. Se i calcoli di ossalato di calcio non subiscono dipendenze dal genere, i calcoli composti da acido urico sono molto più frequenti negli uomini e quelli di struvite nelle donne (dovuti alle maggiori infezioni dell'apparato urinario alle quali le donne, per conformazione fisica, sono più soggette).

La sensibile differenza di frequenza della nefrolitiasi a seconda della nazione si manifesta al variare delle condizioni ambientali e per il modificarsi delle condizioni di familiarità, dell'alimentazione e così via. Tutto ciò da un lato porta a difficoltà negli interventi di prevenzione, dall'altro rende necessario calare nel contesto locale-regionale le ricerche epidemiologiche e la valutazione dei vari fattori di rischio, sia quelli riconosciuti a livello globale, sia altri, tipici o addirittura unici, della zona considerata.

Pertanto si potrà ottenere un accurato dato epidemiologico solo se si considerano i su citati fattori socio-economici e demografici associati poi alle condizioni climatiche, geografiche ed ambientali della regione in esame.

Oltre ai fattori legati alla patologia dei calcoli renali, non bisogna trascurare altri fattori influenzanti le grandi differenze di prevalenza osservate tra diversi paesi: il metodo di studio epidemiologico utilizzato per determinare il tasso di prevalenza e la definizione di caso.

Molti degli studi non si basano sull'intera popolazione ovvero su una porzione rappresentativa e non usano appropriati test statistici per valutare la correttezza dei risultati ottenuti, altri parlano di epidemiologia della nefrolitiasi prendendo in considerazione sia i calcoli renali che quelli delle vie urinarie o, ancora, i calcoli biliari.

In Italia c'è una lunga tradizione di studi e ricerche nel campo della epidemiologia ambientale su temi diversi, ma purtroppo nel campo della nefrolitiasi esistono solo pochi, selezionati, lavori epidemiologici [Baggio 1999; Bellizzi et al. 1999; Borghi et al. 1996, 2006; Ramello et al. 2000; Serio & Fraioli 1999], sufficienti però per affermare come, negli ultimi dieci anni, questa patologia ha registrato un incremento, particolarmente accentuato nel Mezzogiorno [Baggio 1999; Serio & Fraioli 1999].

La lacuna di dati epidemiologici a livello regionale ha fatto nascere l'esigenza di porre in atto un mirato studio epidemiologico della nefrolitiasi in Basilicata per risalire alla prevalenza di casi di sviluppo di calcoli renali per individuare delle zone della regione dove lo sviluppo di questi biominerali patologici è più frequente che in altre.

La raccolta di informazioni su alcune caratteristiche geologico-ambientali ha consentito, poi, di valutarne l'associazione con la diffusione della nefrolitiasi in regione.

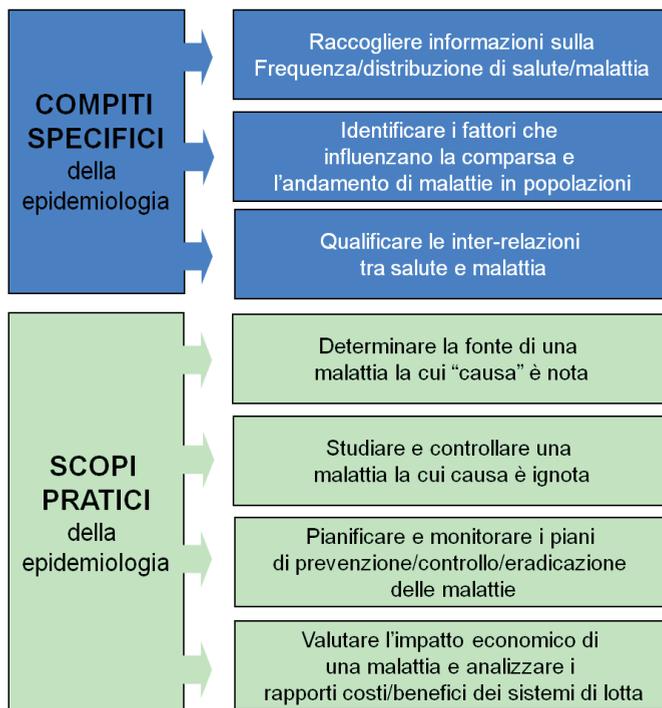
2.1.1 Cenni introduttivi sullo studio epidemiologico

La definizione di epidemiologia più utilizzata è: “Lo studio della distribuzione e dei determinanti di condizioni o eventi correlati alla salute in popolazioni specifiche, e l'applicazione di questo studio per controllare problemi sanitari” [Last, 2001].

L'epidemiologia viene considerata una scienza “eclettica” con molti punti di contatto con altri settori di studio: le scienze biomediche di base, le scienze cliniche, la statistica ed anche, relativamente alla epidemiologia umana, l'antropologia, la demografia e la sociologia.

Cominciamo con il dire metaforicamente che la materia prima di ogni edificio epidemiologico è costituita dai dati. I dati rappresentano il «raccolto» di ogni studio epidemiologico, ed anche il mezzo per giungere a conclusioni scientificamente valide.

Gli obiettivi ottenibili attraverso la raccolta, l'elaborazione e l'interpretazione di dati, sono i seguenti:

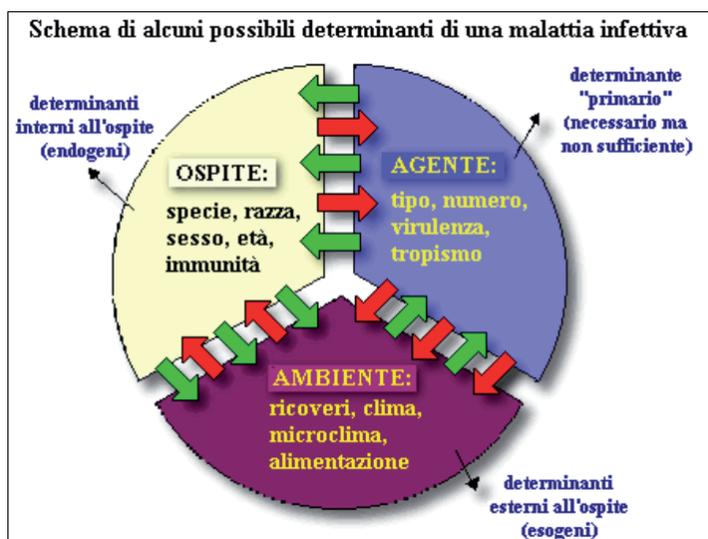


Tutti i fattori che sono in grado di influenzare la comparsa o l'andamento di una malattia, non potendo essere ritenuti «causa» di malattia in senso stretto, vengono detti DETERMINANTI. In altre parole, in epidemiologia, per DETERMINANTI si intendono quei fattori la cui alterazione induce un cambiamento nella frequenza o nei caratteri di una malattia”.

Per ognuno di tali settori, nel grafico sono riportati soltanto alcuni fra gli innumerevoli potenziali attributi. Notare la presenza, nello schema, di un determinante “necessario” o “indispensabile” (l'agente) che deve essere presente perché la malattia si verifichi; esso corrisponde alla «causa» tradizionalmente intesa; questo vale per alcune malattie - tipicamente per quelle infettive - mentre per altre (es. tumori) non esiste alcun determinante indispensabile.

I determinanti secondari sono rappresentati dai fattori la cui variazione esercita un effetto minore nella genesi della malattia. In altre parole, essi non sono indispensabili né di importanza fondamentale per la comparsa della malattia. In molti casi essi corrispondono ai cosiddetti fattori “predisponenti” o “favorenti”.

Con il “determinante” si introduce il concetto di causa come “fattore capace di incrementare la probabilità” della malattia.



Al concetto di determinante è strettamente connesso quello di «rischio». Infatti, in epidemiologia il rischio rappresenta la probabilità, per un individuo o una popolazione, che un evento (in genere la malattia) si verifichi in un dato momento o in un dato periodo di tempo.

Un altro concetto fondamentale in uno studio epidemiologico è la definizione di popolazione. In epidemiologia il termine «popolazione» ha un significato molto ampio: popolazione è qualsiasi aggregato di un numero di unità che hanno una o più caratteristiche comuni. Negli studi epidemiologici eseguiti su una popolazione, spesso si desidera generalizzare i risultati ottenuti.

Esistono diversi disegni di studi epidemiologici: osservazionali e sperimentali.

Nei primi tipi di studi, il ricercatore si limita ad osservare i fattori oggetto di studio per stimare la frequenza di una malattia; tra questi distinguiamo gli studi descrittivi e analitici.

Negli studi sperimentali, invece, il ricercatore può modificare e controllare il fattore oggetto dello studio per identificare i determinanti di salute/malattia; si dividono in trial clinici randomizzati e studi d'intervento.

Gli studi osservazionali si possono classificare in base alla selezione della popolazione di studio in: intera ed in base alla malattia (studi di caso-controllo), all'esposizione (studi di coorte) o in base ad un campione rappresentativo della popolazione generale (*survey*). Gli studi si possono classificare anche in base alla sequenza temporale in: retrospettivo, *one time point* e prospettico.

Gli studi descrittivi prevedono la stima della frequenza di una malattia e si limitano a raccogliere dati descrittivi su possibili fattori causali. L'attributo "descrittiva" deriva dal fatto che, nello studio, si osserva e si descrive una situazione senza interferire con la sua evoluzione.

Gli studi analitici prevedono la formulazione di ipotesi per individuare le cause di un dato evento sanitario e testano queste ipotesi usando appropriati disegni di studio e tecniche statistiche. In questo tipo di studi si interferisce attivamente con la malattia in studio, manipolando una o più delle variabili in causa.

Gli studi descrittivi vengono scelti soprattutto se si vuole descrivere la frequenza di una malattia o di un comportamento in base al tempo, al luogo, e alla persona (quando, dove e chi). Gli studi descrittivi hanno una serie di vantaggi legati soprattutto ai bassi costi di gestione e all'impegno meno gravoso rispetto agli studi analitici. Sono soprattutto utili nella formulazione di ipotesi sull'etiologia o fattori di rischio per un problema e servono nell'amministrazione e pianificazione sanitaria per una distribuzione efficace e razionale delle risorse umane e materiali.

Lo studio sulla diffusione di una patologia per aree geografiche e la relativa creazione di Atlanti è un settore dell'epidemiologia descrittiva che ha avuto un discreto sviluppo in Italia e nel Mondo. L'obiettivo di questo tipo di studi è di determinare:

- i. se le unità geografiche con elevata prevalenza di esposizione hanno anche

un'alta frequenza di malattia;

ii. come cambia sia la prevalenza di esposizione nel tempo che la frequenza della malattia.

In genere, gli studi descrittivi (detti anche “studi ecologici”) rappresentano un substrato prezioso per gli studi analitici, e quindi li precedono.

Come già introdotto, gli studi osservazionali si possono classificare in base alla selezione della popolazione di studio: distinguiamo studi prospettici (o studi di coorte) e studi retrospettivi (o studi di caso-controllo).

Nel caso dell'impostazione retrospettiva, lo sperimentatore inizia raccogliendo i cosiddetti «casi», ossia gli individui che presentano la malattia in studio. Viene anche scelto un adatto gruppo di paragone (o di controllo) che comprenderà individui sani. A questo punto, attraverso una accurata anamnesi su tutti i soggetti in studio, si stabilisce chi tra gli ammalati è stato esposto o meno ad un determinato fattore di rischio. La stessa cosa viene fatta per i sani.

Come già detto, gli studi retrospettivi sono basati su gruppi costituiti da individui che, già all'inizio dell'esperimento, sono noti come «casi» o «controlli»; per questo gli studi di questo tipo sono detti anche «studi caso/controllo».

Diversamente da uno studio retrospettivo, uno studio prospettico inizia scegliendo un gruppo di individui sul quale effettuare l'osservazione, detto anche «coorte», suddividendo, poi la popolazione in esposti e non esposti, ad un fattore di rischio, e osservando nel tempo quanti fra gli esposti (e quanti fra i non-esposti) si ammalano.

2.2 METODI

2.2.1 Data base e questionario epidemiologico

Per l'esecuzione dello studio epidemiologico sono state pianificate una serie di fasi di lavoro:

- Definizione degli obiettivi: risalire alla prevalenza di nefrolitiasi in Basilicata a livello regionale, provinciale e comunale per incrociare poi il dato epidemiologico con quello strettamente ambientale. Ciò al fine di individuare possibili fattori di rischio per lo sviluppo di biominerali patologici quali i calcoli renali;

- Scelta del disegno dello studio: studio di tipo descrittivo e retrospettivo su tre anni di osservazioni (2003-2005);

- Scelta della popolazione in studio: i residenti della regione Basilicata nei tre anni di osservazione;

- Assunzioni di studio: Non è stata fatta alcuna differenza tra le diverse tipologie di litiasi (renale, urinaria), ma esse sono state considerate, in questa prima fase, nella loro totalità; sono stati assimilati i pazienti ricoverati per calcoli

urinari al numero di casi di nefrolitiasi in regione, sottostimando il numero reale dei casi in quanto i soggetti affetti da calcoli asintomatici, non richiedendo un intervento medico, sono difficilmente rintracciabili; non è stata fatta nessuna distinzione fra primi casi e recidive, ma pazienti ricoverati più volte sono stati conteggiati una sola volta;

- Scelta del CASO: numero di residenti in qualsiasi comune della Basilicata che nel periodo di osservazione prestabilito (2003-2005) è stato ricoverato presso una qualsiasi struttura ospedaliera nazionale per le diagnosi “Nefrolitiasi urinaria con complicazioni e/o litotrissia mediante ultrasuoni” (DRG 323) e “Nefrolitiasi urinaria senza complicazioni” (DRG 324); [DRG = *Diagnosis Related Groups*; in italiano “Raggruppamenti Omogenei di Diagnosi”, ROD];

- Scelta della popolazione di controllo: la restante popolazione residente in Basilicata non affetta da questa patologia, il cui numero è stato ricavato da dati intercensuali assumendo che corrisponda al numero reale di persone che abitualmente vivono in regione;

- Pianificazione del database: assegnazione di un record per ogni CASO, con indicazione del comune di residenza, del genere, dell'età e dell'anno di ricovero;

- Campionamento: raccolta dei dati provenienti da archivi, banche dati regionali e/o ospedaliere.

Per l'esecuzione di parte delle fasi di lavoro elencate sono state utilizzate convenzioni già poste in essere tra l'Istituto di Metodologie di Analisi Ambientale del Consiglio Nazionale delle Ricerche, partner e finanziatore della borsa di dottorato, ed i maggiori enti regionali ed avviati nuovi protocolli di intesa con l'Assessorato alla Salute, Sicurezza e Solidarietà Sociale, Servizi alla Persona e alla Comunità e con l'Assessorato all'Ambiente della Regione Basilicata e con l'Azienda Ospedaliera “San Carlo” di Potenza, per regolare i reciproci rapporti di cooperazione e collaborazione nello sviluppo di attività di ricerca finalizzata alla tutela della salute umana, anche per meglio utilizzare le risorse e le competenze esistenti presso i vari enti ai fini delle attività di ricerca.

I dati provenienti dalle banche dati regionali, sono stati sottoposti ad una prima elaborazione per separare i casi di nefrolitiasi per anno e per comune. Per ogni comune, i casi sono stati stratificati per sesso e per età al fine di creare delle tabelle in cui i dati fossero facilmente accessibili per le elaborazioni successive (tab. 2.1).

Tabella 2.1 Esempio di tabella riassuntiva delle informazioni ottenute per ogni comune
Example of recapitulatory table reporting the information about each municipality

Abriola	n. ricoverati per nefrolitiasi (2003)		n. ricoverati per nefrolitiasi (2004)		n. ricoverati per nefrolitiasi (2005)		Totale casi 2003-2005 Maschi	Totale casi 2003-2005 Femmine
	M	F	M	F	M	F		
Fasce di età								
0-19							0	0
20-29				2			0	2
30-39		1	1	3			1	4
40-49		1			1		1	1
50-59		1	1	1			1	2
60-69	1		1		1		3	0
70+	2	1		2	1	1	3	4
Totale per colonna	3	4	3	8	3	1	9	13
	Tot 2003	7	Tot 2004	11	Tot 2005	4	Totale casi 2003-2005	22

Dal solo *data base* dell'azienda ospedaliera "San Carlo" di Potenza, sono stati estrapolati i casi di ricovero per nefrolitiasi di residenti in Basilicata per i tre anni di osservazione 2003-2005. Anche questi dati sono stati sottoposti ad una prima elaborazione per separare i casi di nefrolitiasi per anno, per comune di residenza del paziente e per genere maschile o femminile.

Durante l'anno 2007, invece, è stato necessario estrapolare un numero di residenti della Basilicata affetti dalla patologia in questione e ricoverati presso l'azienda ospedaliera di Potenza, dopo aver accertato che rappresentassero un campione rappresentativo di tutta la popolazione lucana, per genere ed età ; ad essi è stato distribuito un questionario epidemiologico.

Il questionario comprende una serie di domande riguardanti i dati personali (sesso, età, stato civile, indirizzo completo e livello scolastico), socio-economici (tipo di lavoro, attività sportiva) e la storia medica (peso, altezza, anamnesi personale e familiare, abitudini alimentari). In particolare sulle abitudini alimentari, ci sono domande specifiche sulle quantità giornaliere e sul tipo di acqua utilizzata (imbottigliata o meno). Inoltre se consumano, e con quale frequenza, alcuni cibi e bevande particolari (es. vegetali ricchi in ossalati) e nel caso siano prodotti biologici, il luogo esatto di coltivazione per valutare la possibilità di ingerire elementi chimici promotori di calcoli provenienti dal suolo coltivato.

La distribuzione dei suddetti questionari si è resa necessaria per reperire ulteriori informazioni sui fattori influenzanti lo sviluppo di calcoli renali per il prosieguo dell'attività di ricerca.

Oltre ai dati riguardanti gli aspetti demografici della popolazione affetta da nefrolitiasi è stato necessario reperire le informazioni su alcuni fattori ambientali e comportamentali [Schwille et al. 1992] che sono considerati tra quelli determinanti la patologia, come già esposto nell'introduzione di questa tesi.

Dal momento che la prevalenza di nefrolitiasi mostra considerevoli differenze in relazione alla posizione geografica [Chen et al. 2000; Hesse et al. 2003; Komatina 2004; Lee et al. 2002] e che questa differenza è ancora più netta in relazione a differenze climatiche, è stato valutato il clima della Basilicata.

Questo è tipicamente mediterraneo, con una sfasatura nella distribuzione delle piogge: si assiste, infatti, a precipitazioni più abbondanti nel periodo autunno-invernale e quasi stasi nel periodo estivo. Le precipitazioni annue variano dai 500mm della collina materana agli oltre 1.500mm delle montagne potentine. Le temperature delle aree interne del territorio raggiungono i 38-40 °C in estate e si assiste a temperature sotto lo zero nei mesi di Gennaio e Febbraio, con ritorni di freddo a fine primavera.

Nello studio sono stati utilizzati i dati di temperatura media derivanti dalla media di tutte le ventiquattro temperature medie orarie del giorno, a partire dalle temperature medie mensili pluriennali relative al periodo 1999-2002 dei dati termo-pluviometrici acquisiti delle stazioni agro-climatiche automatiche afferenti al progetto “Analisi climatologica e realizzazione di un sistema di restituzione dati meteorologici in formato griglia per la Basilicata” della Regione Basilicata [Stelluti e Rana 2004].

I dati a disposizione sono riassunti in una carta delle temperature (fig. 2.1):

Dall'esame dei dati del lavoro su citato dell'Alsia si evince che le temperature massime, medie e, in misura minore, le minime, sono altamente e positivamente correlate con la quota sul livello del mare del territorio lucano.

L'altitudine di tutti i comuni lucani è stata ricavata dalla cartografia regionale ed opportunamente tabellata per consentire la determinazione dell'associazione statistica con la prevalenza di nefrolitiasi.

Tra i fattori di rischio ambientali e comportamentali rientrano le abitudini alimentari: assunzione di cibi e liquidi, in particolare di acqua.

Ci sono molti studi sulla valutazione della qualità delle acque ingerite, non solo legati al problema della nefrolitiasi [Neri et al. 1975; Petraccia et al. 2006; Rubenowitz-Ludin & Hiscock 2005; WHO 2002].

Se la pratica di incrementare il consumo di acqua per prevenire lo sviluppo di calcoli era già nota dai tempi di Ippocrate e tutt'oggi avallata da numerosi studi, la valutazione dell'effetto sulla nefrolitiasi della tipologia di acque utilizzate non trova ancora una risposta chiara. Dai dati di letteratura è emersa la controversia tra l'utilizzo di acqua ricca in calcio ed il suo divieto di assunzione quale prassi preventiva alla formazione di calcoli [pro: Ackermann et al. 1988; Curhan et al. 1993; Rodgers et al. 1997. contro: Shuster et al. 1982; Bellizzi et al. 1999].

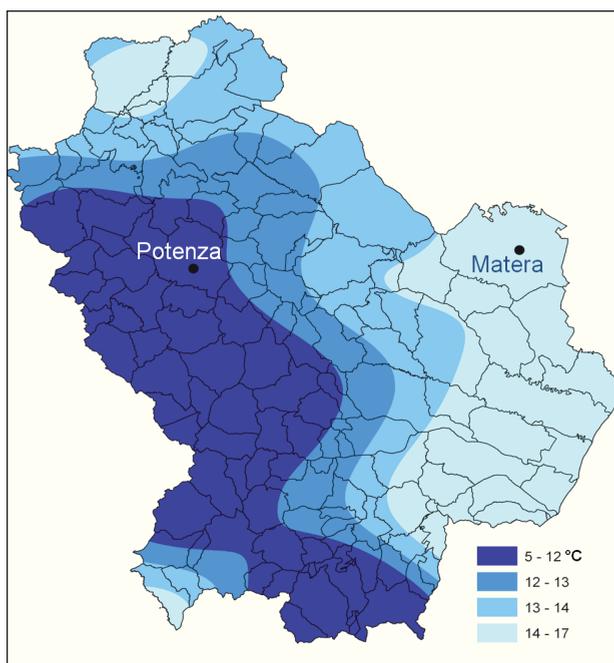


Figura 2.1 Distribuzione delle temperature medie annue
Distribution of the average annual temperatures

Per la valutazione del rischio da nefrolitiasi per la popolazione lucana derivante dalla qualità delle acque, i risultati di analisi chimiche eseguite nel 2006 dall'Acquedotto lucano (in collaborazione con altri enti di ricerca e non) per le acque potabili di tutti i comuni della Basilicata, sono stati utilizzati per le indagini epidemiologiche.

Il contenuto in calcio delle acque aggiunto a quello del magnesio, determina la durezza delle acque. Questa è una caratteristica naturale dell'acqua, che deriva sostanzialmente dalla presenza in soluzione di ioni Ca^{2+} e Mg^{2+} , ed è espressa in milligrammi di carbonato di calcio CaCO_3 presenti in un litro d'acqua. L'unità di misura più utilizzata è il grado francese ($^{\circ}\text{f}$), che corrisponde a 10 milligrammi/litro di CaCO_3 .

Sulla base della più diffusa classificazione della durezza, le acque sono state classificate in poco dure (durezza $<$ a 15°f), mediamente dure (durezza compresa tra i 15°f e i 30°f) e dure (con durezza $>$ di 30°f) [Limiti di legge previsti dal D.Lgs. 31/2001].

I valori di durezza delle acque sono stati cartografati (fig. 2.2).

La Basilicata, come già visto, è suddivisa in due grosse zone caratterizzate da

caratteri climatici e geografici differenti. Al fine di individuare tutti i possibili fattori ambientali che potrebbero influenzare la diffusione dei calcoli renali, ogni carattere distintivo di un'area regionale viene preso in considerazione.

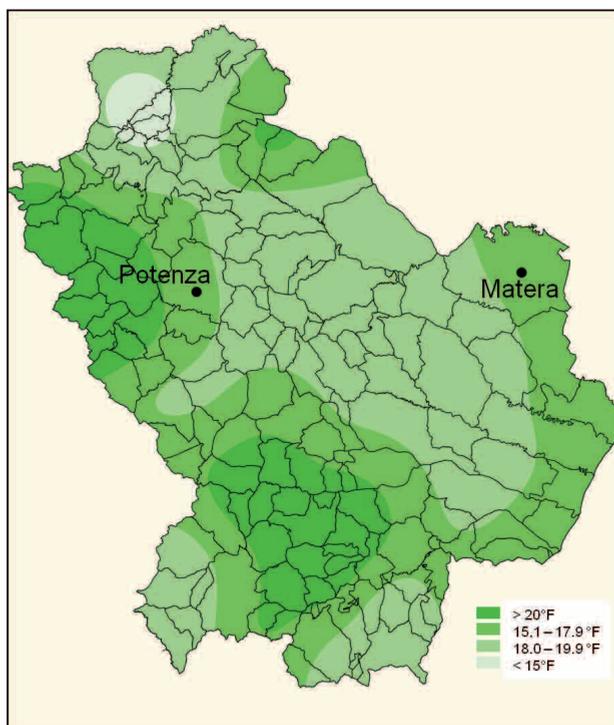


Figura 2.2 Distribuzione della durezza delle acque potabili
Distribution of drinking water hardness

La Basilicata si divide in aree a diverso regime pedologico, classificate alla macroscale e denominate regioni pedologiche [DASREM 2006]. La presenza in Regione di cinque diverse regioni pedologiche (fig. 2.3) associate a clima, geologia e litologia del suolo diverso, espongono i residenti a fattori ambientali che in modo prevalente gli uni rispetto agli altri possono influenzare lo sviluppo dei calcoli.

Conoscere la tipologia del suolo a disposizione dei residenti per eventuali coltivazioni agricole è importante per risalire ai prodotti biologici consumati nella dieta. Questa informazione può essere utile anche per giustificare l'origine di alcuni elementi chimici che con il ciclo alimentare (cibo e acqua) raggiungono l'organismo umano causando disturbi di vario genere [Barberis 1996; Felici 2005].

I rilievi appenninici sono suddivisi in due regioni pedologiche, distinte soprattutto in base alle formazioni geologiche dominanti: calcari e dolomie lungo il confine occidentale e meridionale (regione 59.7), flysch arenacei, marnosi e argillosi nella fascia più interna (regione 61.1). Le aree collinari della fossa Bradanica e del bacino di Sant'Arcangelo appartengono ad un'unica regione pedologica, la 61.3, mentre nella 62.1 rientrano le superfici geologicamente più giovani, quali la valle dell'Ofanto e l'area costiera ionica. La regione n. 72.2 rappresenta una piccola propaggine di una regione pedologica che in Puglia caratterizza superfici molto estese: si tratta dei tavolati calcarei delle Murge.

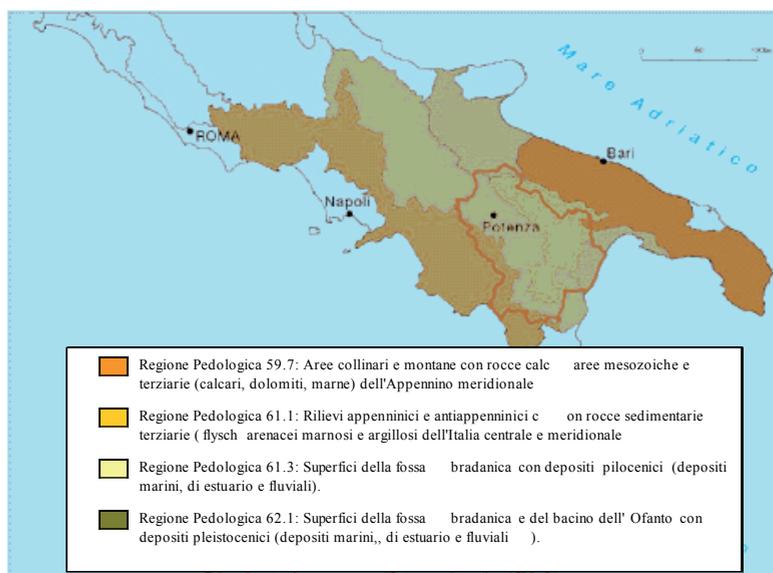


Figura 2.3 Regioni pedologiche in Basilicata [DASREM 2006]
Pedological areas in Basilicata

Con i dati a disposizione dalla Carta pedologica della Regione Basilicata [DASREM 2006], è stato possibile investigare un secondo livello di pedopaesaggio, più dettagliato, che identifica le province pedologiche. In regione ne sono state riconosciute 15, distinte sulla base di importanti fattori ambientali che influenzano la formazione dei suoli, in particolare morfologici, litologici e climatici.

Ogni possibile elemento di “disturbo” per l’organismo è stato valutato. E’ per questo che sono state identificate le aree vulnerabili a nitrati di origine agricola da uno studio regionale [Regione Basilicata 2008] e valutato il loro grado di rischio per la nefrolitiasi (fig. 2.4).

La presenza di un’elevata percentuale di carbonato di calcio nel suolo può

essere un fattore di rischio per la nefrolitiasi in quanto, dal suolo, attraverso le piante, esso può entrare nel ciclo alimentare e contribuire al bilancio globale di carbonati ingeriti. La disponibilità di una carta regionale [DASREM 2006, fig. 2.5] è stata l'occasione per la determinazione di una possibile associazione. La carta dei carbonati si riferisce al contenuto in carbonati totali nella terra fine degli orizzonti superficiali del suolo, nei suoli agricoli e dell'orizzonte arato.

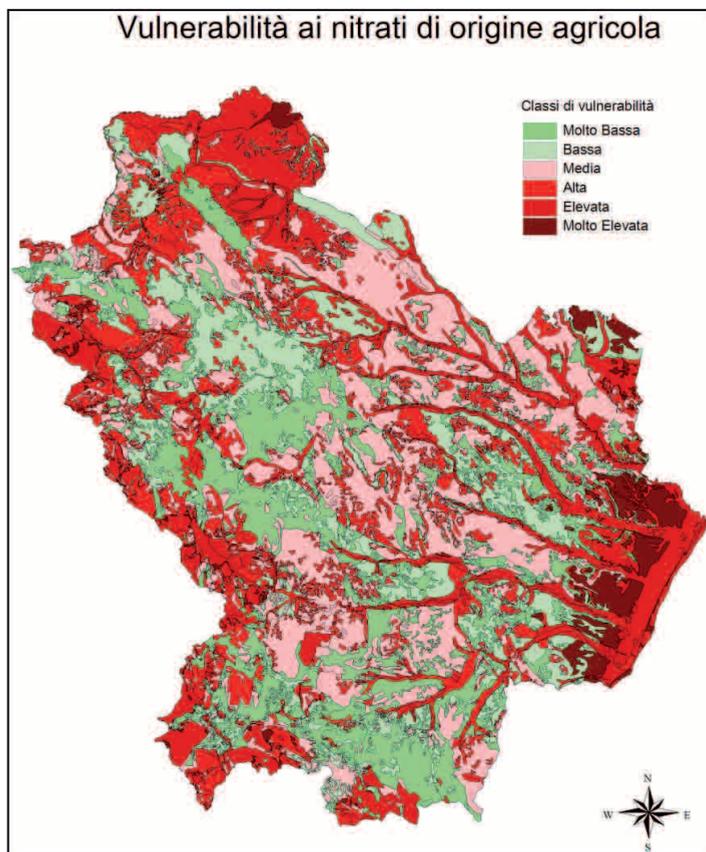


Figura 2.4 Mappa di vulnerabilità ai nitrati di origine agricola [Regione Basilicata 2008]
Map of the vulnerability to nitrate of agricultural origin

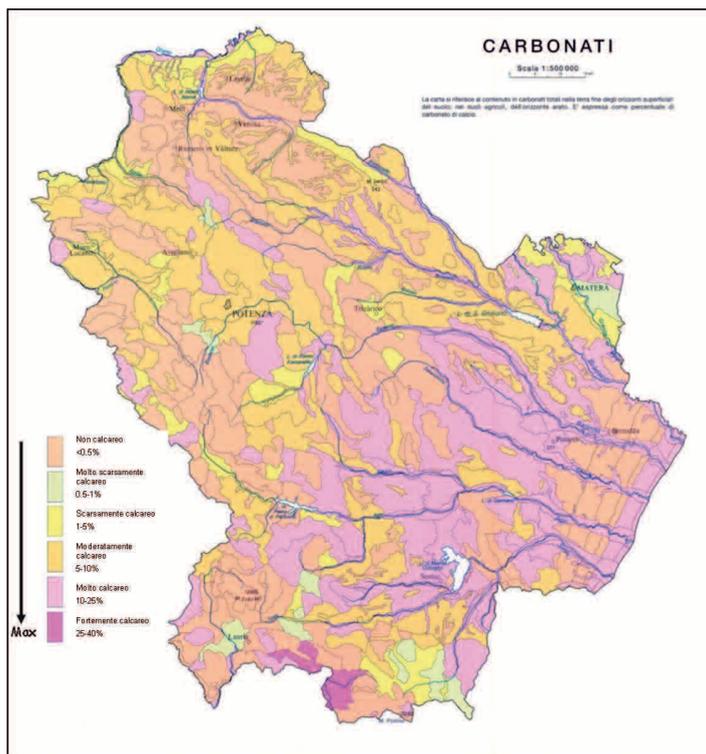


Figura 2.5 Carta dei carbonati [DASREM 2006]
Carbonate map

2.2.2 La statistica applicata all'epidemiologia

Alla fase di raccolta dati, hanno fatto seguito una serie di elaborazioni matematiche che hanno consentito di estrapolare i risultati della ricerca.

Le misure ottenute hanno avuto lo scopo di illustrare la frequenza della malattia in una data area geografica e di determinarne le eventuali associazioni con fattori di rischio.

Nel primo caso si parla di misure di occorrenza, nel secondo di misure di associazione. Tra le prime ritroviamo la prevalenza e l'incidenza.

In termini generali, la prevalenza misura la proporzione di “eventi” presenti in una popolazione in un dato momento. Nel presente studio al termine evento corrisponde il ricovero in ospedale per sopraggiunta nefrolitiasi, pertanto possiamo dire che la prevalenza misura la proporzione di individui della popolazione lucana che, nell'intervallo temporale considerato (2003-2005), ha presentato la malattia in esame.

L'espressione utilizzata per il calcolo della prevalenza è semplicemente $D/$

(D+N) dove D rappresenta il numero di ammalati e N il numero di soggetti “a rischio”. Per “soggetti a rischio” non si intende indicare quelli sottoposti ad uno o più determinanti di malattia, bensì - più semplicemente - quelli non ancora ammalati ma “suscettibili” ossia che possono contrarre la malattia in studio.

Diversamente, l'incidenza misura la proporzione di “nuovi eventi” che si verificano in una popolazione in un dato lasso di tempo. Per la tipologia di patologia in esame e per i dati a disposizione nel *data base* è difficile individuare i “nuovi casi”, per questo motivo è più corretto parlare di occorrenza rappresentando la proporzione di individui che vengono colpiti dalla malattia in un determinato periodo di tempo, ma che potrebbe non corrispondere con un nuovo caso ma bensì con recidive.

Test di significatività statistica sono stati applicati ai valori di prevalenza ottenuti: test del chi-quadro e test esatto di Fisher.

Le misure di prevalenza e/o di incidenza calcolate sono state rappresentate attraverso grafici del numero di nuovi casi di nefrolitiasi in funzione del tempo per mettere in evidenza l'andamento della malattia in una popolazione. Questi grafici sono definiti «curve epidemiche».

Oltre alle curve epidemiche per rappresentare la malattia in funzione del tempo, è stato utile illustrare la distribuzione geografica (o spaziale) della malattia con mappe di prevalenza.

La scelta di una rappresentazione spaziale della nefrolitiasi ha avuto anche lo scopo di facilitare l'identificazione di concentramenti (*clusters*) di casi in determinate aree, con lo scopo di identificare le possibili cause della malattia.

Lo scopo più importante di questo studio epidemiologico, non è stato solo quello di stabilire la frequenza della nefrolitiasi, ma di stabilire l'esistenza di un'associazione statistica tra un presunto determinante (o un'esposizione ad un certo fattore) e lo sviluppo di calcoli renali in Basilicata.

L'accertamento dell'associazione è, però, soltanto il primo passo, che richiede poi l'interpretazione del significato dell'associazione. Infatti, associazione non è sinonimo di causalità, dal momento che esistono anche associazioni non causali oppure associazioni spurie.

L'iter da seguire per la stima di una associazione tra determinate e malattia ha previsto la compilazione di tabelle di dati e l'esecuzione di una serie di calcoli.

Le elaborazioni statistiche sono state eseguite con il software OpenEpi che è un software *open-source* di calcoli epidemiologici.

Per illustrare il procedimento, viene utilizzato il calcolo dell'associazione tra lo sviluppo di nefrolitiasi in Basilicata e il genere maschile o femminile della popolazione affetta da questa patologia.

Si parte con lo stabilire quale sia il fattore “determinante” la patologia per poi verificare se l’esposizione a questo fattore ha una associazione positiva o negativa con la patologia.

Nel caso in esame, considerate le numerose evidenze bibliografiche, viene considerata l’appartenenza al genere maschile il fattore determinante lo sviluppo di calcoli renali.

La verifica dell’ipotesi dell’esistenza dell’associazione “genere maschile-nefrolitiasi” avviene attraverso uno studio retrospettivo, quale quello messo in atto.

Dal *data base* si estraggono il numero di casi di nefrolitiasi in regione ed il numero di persone residenti in regione non affette da nefrolitiasi. Questi due valori costituiranno i totali delle due colonne di una tabella 2x2.

The screenshot shows the OpenEpi software interface. The main window displays a 2x2 contingency table titled "Open Epi 2 x 2 Table". The table has "Exposure" on the vertical axis and "Disease" on the horizontal axis. The cells are colored: red for (+, +), orange for (+, -), yellow for (-, +), and green for (-, -). The "Totals" row and column are greyed out. The software title bar shows "OpenEpi" and the menu bar includes "Inizio", "Inserisci", "Risultati", "Esempi", and "Aiuto". A sidebar on the left lists various statistical methods, with "Tavola Due per Due" selected. Below the table, there are buttons for "Calcola" and "Azzera", and a section for "Impostazioni" with "Conf. level=95%".

		'Disease'	
		(+)	(-)
'Exposure'	(+)		
	(-)		
Totals			

Nel periodo considerato, il numero di “casi” (ossia persone affette da nefrolitiasi) è risultato pari a 3868 contro 592921 soggetti non affetti da questa patologia.

Si determinano retrospettivamente il numero dei maschi tra i casi ed i controlli e di conseguenza quello delle donne, completando la tabella.

		Nefrolitiasi		
		(+)	(-)	
Genere maschile	(+)	2079	291141	293220
	(-)	1789	301780	303569
Totals		3868	592921	596789

In una tabella derivante da uno studio retrospettivo, l'analisi procede confrontando la proporzione di esposti nel gruppo dei casi $[a/(a+c)]$ con la proporzione di esposti nel gruppo dei controlli $[b/(b+d)]$ (confronto fra colonne).

	Si malattia	No malattia	
Si esposizione	a	b	a+b
No esposizione	c	d	c+d
	a+c	b+d	

Ottendo:

Proporzioni di esposti sugli ammalati	0.537
Proporzioni di esposti nei sani	0.491

Ipotesi: La differenza osservata fra le due proporzioni (0.537 vs 0.491) è dovuta al caso?

Questa ipotesi può essere vera o falsa. Per rispondere bisogna applicare un test statistico adatto al confronto di due proporzioni (es. *chi-quadrato di Pearson*). In particolare, si tratta di confrontare due percentuali, allo scopo di verificare se la loro differenza è dovuta al caso oppure no. Se la differenza non è dovuta al caso, si dice che essa è «significativa».

Il chi-quadrato viene calcolato come segue:

$$\chi^2 = \sum \frac{(\text{numero osservato} - \text{numero atteso})^2}{\text{numero}}$$

Nel caso di tabelle 2x2, si deve applicare un piccolo correttivo, detto di Yates, che consiste nel sottrarre $\frac{1}{2}$ (cioè 0.5) ad ogni valore di osservato ed atteso.

Proporzioni di esposti sugli ammalati	0.537
Proporzioni di esposti nei sani	0.491
Test del X^2 per la significatività statistica	33.19
La differenza fra i due gruppi è statisticamente significativa al livello di probabilità dell'1%.	

Calcolato il valore del chi-quadrato bisogna confrontarlo con dei valori critici tabellati (di cui si presenta di seguito un estratto) in base al grado di libertà che per tabelle 2x2 è pari a 1 da:

DF: (numero di righe-1)*(numero di colonne-1)

Gradi di libertà	Probabilità	
	5%	1%
1	3.841	6.635
2	5.991	9.210
3	7.815	11.345
4	9.488	13.277
5	11.070	15.086
6	12.592	16.812
7	14.067	18.475
***	***	***

Valore calcolato: 33.19

Valore critico per DF=1 e probabilità del 5%: 3.84

Visto che il valore calcolato è superiore al valore critico, l'ipotesi che la differenza tra le due proporzioni sia dovuta al caso può essere tranquillamente rifiutata, in quanto abbiamo il 99% di probabilità che la differenza osservata tra i gruppi non sia dovuta al caso.

Quindi, è possibile affermare che la differenza fra i casi ed i controlli è statisticamente significativa al livello di probabilità 1%. Un modo analogo di esprimere questo concetto è il seguente: la differenza fra i casi ed i controlli è statisticamente significativa per $p < 0.01$ (dove p sta per probabilità).

Al termine di questa prima fase di elaborazione dei dati è stata osservata una associazione tra “genere maschile” e “nefrolitiasi”. Per esprimere la potenza di questa associazione è necessario calcolare un altro parametro: l'*Odds Ratio* (OR), per studi retrospettivi.

Per comprendere questa misura, occorre introdurre il concetto di “*odds*” (termine che non ha un corrispondente in italiano; può essere reso con “probabilità a favore”).

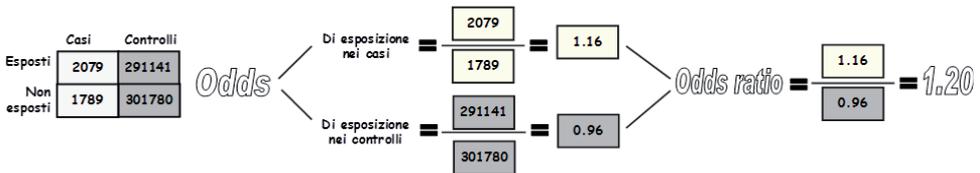
L'*odds*, in pratica, corrisponde al rapporto fra il numero di volte in cui l'evento si verifica (o si è verificato) ed il numero di volte in cui l'evento non si verifica (o si è verificato).

Questo viene calcolato facendo il rapporto tra l'*odds* di esposizione nel gruppo dei casi e l'*odds* di esposizione nel gruppo dei controlli.



Si utilizzano i semplici rapporti tra le frequenze osservate (a/c, b/d), ma applicando le proprietà delle frazioni, l'*odds ratio* può venire più facilmente calcolato attraverso i prodotti delle celle incrociate della tabella (a*d e b*c); perciò viene anche detto, in italiano, “rapporto incrociato”.

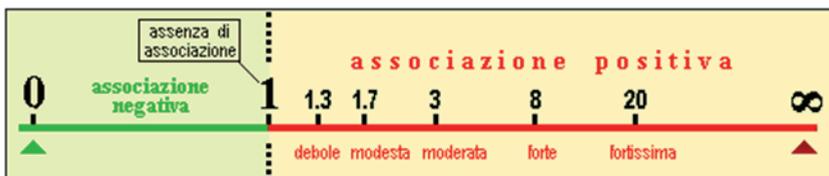
Ritorniamo all'esempio del “genere maschile-nefrolitiasi” e calcoliamo l'OR:



Ma qual è il significato del valore ottenute dal calcolo dell'OR?

Dapprima occorre sottolineare che l'OR può assumere valori teorici compresi fra 0 e +infinito. È intuitivo che un valore =1 indica assenza di associazione tra malattia ed esposizione, in quanto testimonia che l'*odds* di esposizione nei casi è uguale all'*odds* di esposizione nei controlli. Un valore <1 indica un'associazione negativa (cioè il fattore può *proteggere* dalla malattia) mentre un rapporto >1 indica l'esistenza di una associazione positiva (il fattore può *causare* la malattia). Naturalmente, valori crescenti indicano associazioni più forti.

In sintesi, l'interpretazione dell'*odds ratio* viene effettuata in base allo schema che segue:



In base al suddetto schema di interpretazione, l'associazione “genere maschile-nefrolitiasi” (OR=1.20) dell'esempio precedente è da classificare come positiva ma debole.

2.3 RISULTATI

2.3.1 La prevalenza di nefrolitiasi in Basilicata

L'incidenza della nefrolitiasi in Basilicata è stata ricostruita retrospettivamente utilizzando i dati regionali di ricoveri per nefrolitiasi. La Basilicata conta 131 comuni per un totale di circa 597000 abitanti distribuiti, non uniformemente, su una superficie di 9992 kmq.

3876 persone sulla totale popolazione regionale (≈ 597000 da stime intercensuali ISTAT) sono state affette da nefrolitiasi dal 2003 al 2005. Il tasso di prevalenza calcolato (tab. 2.2) per l'intero periodo a livello regionale è del 6.49% (dev. std. ± 3).

Tabella 2.2 Prevalenza di nefrolitiasi in Basilicata dal 2003 al 2005

Nephrolithiasis prevalence in Basilicata between 2003 and 2005

Gruppo	Popolazione di controllo (%)	Prevalenza (‰)
Uomini	293220 (49.13)	2089 (7.12)
Donne	303569 (50.87)	1787 (5.89)
Età		
0-19	126319 (21.17)	152 (1.20)
20-29	82212 (13.78)	385 (4.68)
30-39	91023 (15.25)	619 (6.80)
40-49	83982 (14.07)	758 (9.03)
50-59	69044 (11.57)	691 (10.01)
60-69	61820 (10.36)	598 (9.67)
> 70	82389 (13.81)	673 (8.17)
	596789 (100)	3876 (6.49)

La prevalenza di nefrolitiasi incrementa con l'età. La tabella 2.2 illustra la distribuzione della prevalenza di nefrolitiasi nelle 10 classi di età in cui è stata suddivisa la popolazione.

Come si può osservare la prevalenza incrementa da 1.20‰ nella fascia di età tra 0 e 19 anni fino ad arrivare al 10.01‰ nella fascia di età 50-59 anni.

Lo sviluppo di calcoli renali è più frequente negli uomini (7.12‰) che nelle donne (5.89‰), con un rapporto uomini/donne pari a 1.2:1. Questa differenza è statisticamente significativa con il 99% di confidenza.

Nel 2003 l'incidenza annua di nefrolitiasi raggiunge i valori più elevati rispetto agli altri due anni di osservazione, come si può osservare dalle curve epidemiche di figura 2.6.

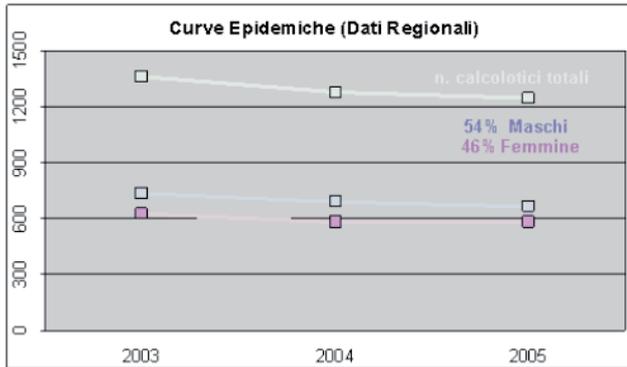


Figura 2.6 Casi di nefrolitiasi distinti per anno e per genere
Nephrolithiasis subdivided into years and gender

Durante i tre anni di osservazione la distribuzione di calcoli renali è sempre a discapito degli uomini con il 54% dei casi rispetto al 46% dei casi sviluppati tra le donne.

L'incidenza media annua di nuovi casi di nefrolitiasi è di 2.16 casi su 1000 abitanti. Il tasso è stato calcolato sui nuovi casi verificatisi tra il gennaio 2003 ed il dicembre 2005. Tra questi casi 2.37 soggetti su 1000 sono uomini e 1.96 su 1000 sono donne. Questa prevalenza di casi nel genere maschile non è evidente, però, nell'età giovanile <19 anni (tab. 2.3).

Tabella 2.3 Prevalenza annuale di nefrolitiasi su 1000 abitanti. Stratificazione per genere ed età
Annual nephrolithiasis prevalence on 1000 inhabitants stratified by gender and age

Età	2003			2004			2005		
	tot '03	Uomini	Donne	tot '04	Uomini	Donne	tot '05	Uomini	Donne
0-19	0.47	0.41	0.52	0.33	0.26	0.41	0.40	0.29	0.52
20-29	1.73	1.86	1.59	1.63	1.50	1.76	1.33	0.98	1.69
30-39	2.34	2.56	2.12	2.24	2.12	2.36	2.22	2.43	2.01
40-49	2.93	3.34	2.52	3.11	3.87	2.35	2.99	3.46	2.52
50-59	3.48	3.89	3.07	3.36	3.92	2.81	3.17	4.06	2.30
60-69	3.49	4.00	3.04	3.35	4.00	2.76	2.83	3.35	2.37
> 70	2.95	3.54	2.51	2.35	2.85	1.99	2.86	3.14	2.66
	2.28	2.51	2.05	2.13	2.35	1.92	2.08	2.26	1.91

I casi di nefrolitiasi del periodo 2003-2005 stratificati per fasce di età, sono stati diagrammati per mettere in evidenza che le fasce di età più colpite sono quelle tra i 40-59 anni, con un andamento molto variabile dei malati di età maggiore di 70 anni. Gli adolescenti ed i neonati sono relativamente poco colpiti da questa malattia (fig. 2.7).

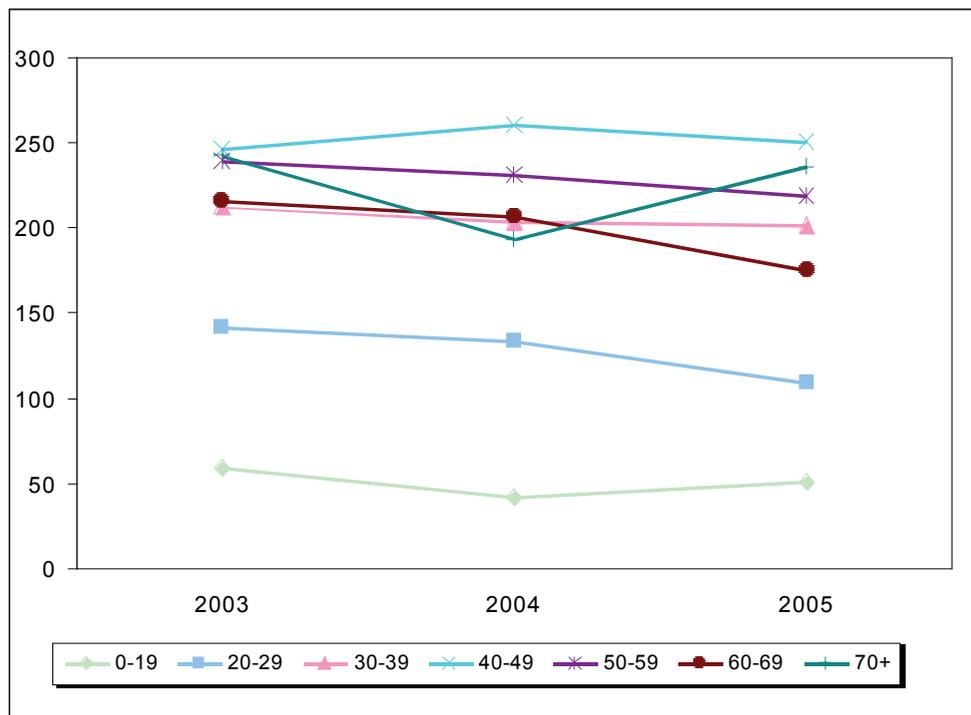


Figura 2.7 Casi di nefrolitiasi nei tre anni di osservazione, stratificati per fasce di età
Nephrolithiasis cases in 3 year's observation stratified by age

Sommando tutti i casi registrati nel periodo 2003-2005 e combinando le informazioni sul sesso e sulle fasce di età prevalentemente colpite da nefrolitiasi, è stato creato un ulteriore grafico (fig. 2.8) dove si mostra chiaramente la prevalenza di malattia fra i maschi residenti in Basilicata con età compresa tra i 30-69 anni, mentre è maggiore la diffusione di nefrolitiasi tra le giovani adolescenti.

La regione Basilicata è stata suddivisa nelle sue 5 Aziende Sanitarie Locali (ASL) alle quali i comuni sono assegnati in base a principi territoriali: ASL n. 1 Venosa, ASL n. 2 Potenza, ASL n.3 Lagonegro, ASL n. 4 Matera, ASL n. 5 Montalbano Jonico.

Al fine di confrontare i tassi di prevalenza delle ASL e dei singoli comuni con estensione areale e densità di popolazione differente, è stato applicata una standardizzazione diretta rispetto ad una popolazione media comunale.

Tra le 5 ASL, si registra uno scarto di 5 malati di nefrolitiasi su 1000 abitanti, con un massimo per l'ASL n. 2 di Potenza. Le differenze osservate sono statisticamente significative al 95%.

I tassi calcolati sono stati cartografati a creare delle mappe di prevalenza (fig. 2.9 e tab. 2.4) per facilitare l'identificazione di concentramenti di casi in determinate aree.

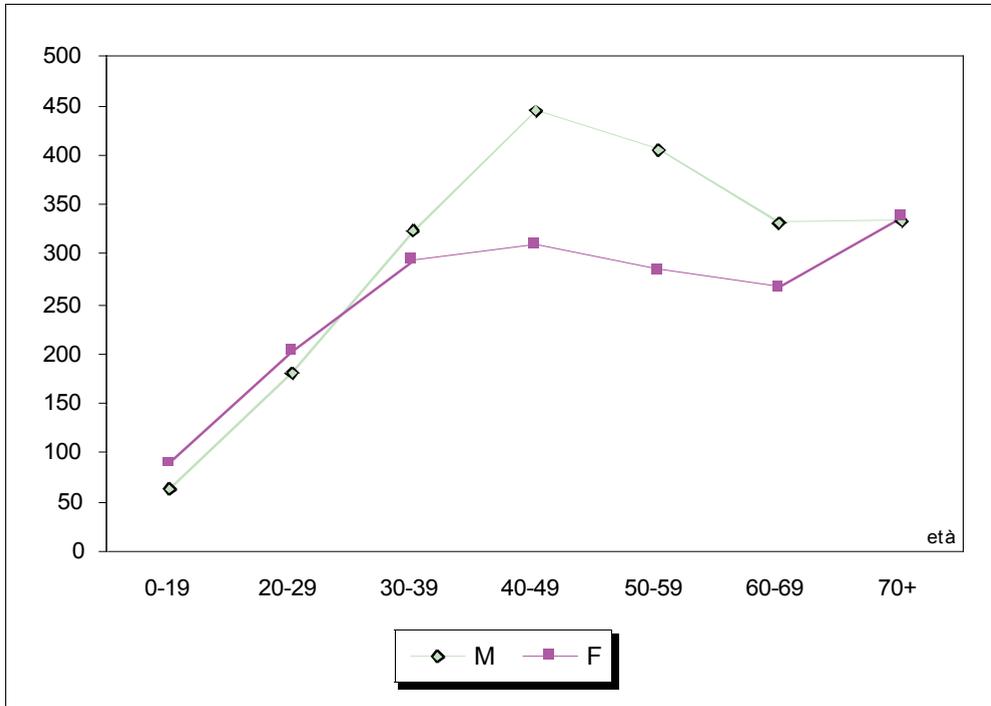


Figura 2.8 Numero di casi di nefrolitiasi totali per il periodo 2003-2005 divisi per genere ed età
Total nephrolithiasis cases between 2003 and 2005 divided into gender and ages

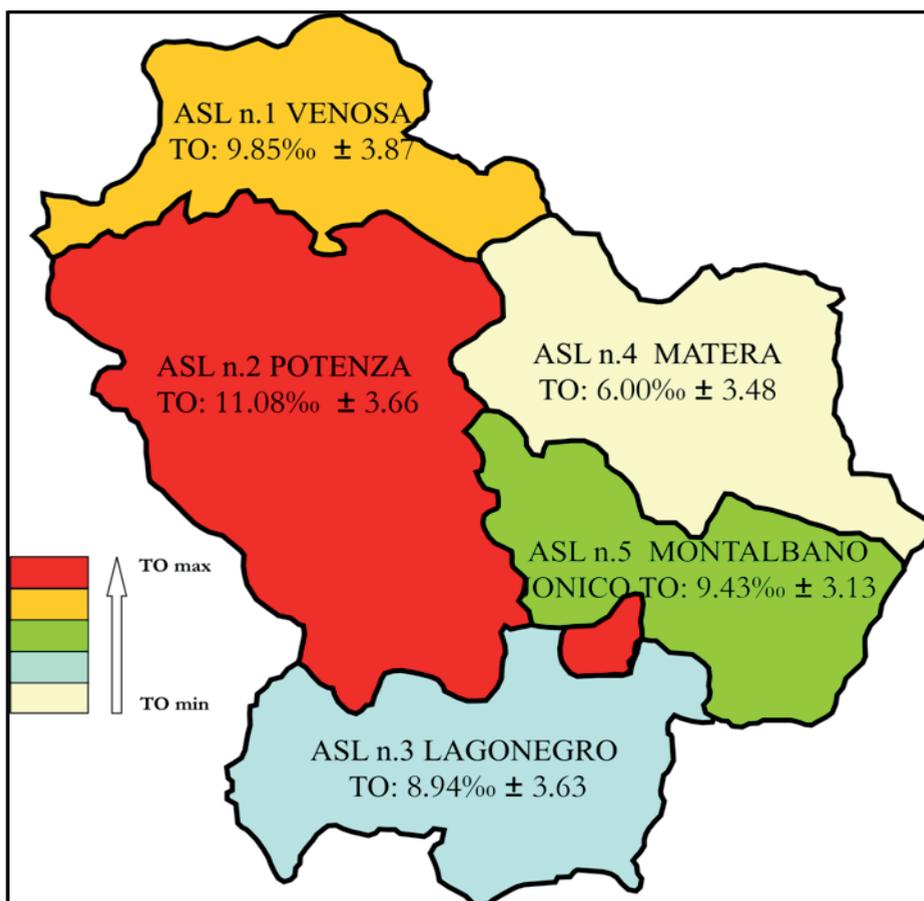


Figura 2.9 Tasso di ospedalizzazione medio per gli anni 2003/2004/2005 per i comuni appartenenti alle 5 ASL regionali

Average hospitalization rate in 2003, 2004 and 2005 for the municipalities included in 5 Local Health Centres (ASL)

Tabella 2.4 Prevalenza di casi di nefrolitiasi nelle 5 Aziende Sanitarie Locali (ASL) della Basilicata
Nephrolithiasis prevalence in the 5 Basilicata Health Centres (ASL)

Azienda Sanitaria Locale ASL (comuni)	Numero di casi (%)	Prevalenza ‰ (dsv)	Prevalenza std. ‰ (dvs)
1 (19)	587 (15)	2.28 (0.90)	9.85 (3.87)
2 (53)	1781 (46)	2.57 (0.85)	11.08 (3.66)
3 (28)	444 (12)	2.07 (0.84)	8.94 (3.63)
4 (13)	471 (12)	1.39 (0.81)	6.00 (3.48)
5 (18)	593 (15)	2.18 (0.73)	9.43 (3.13)
	3876 (100)	2.10 (0.43)	9.06 (1.88)

I tassi di prevalenza maggiori si registrano per le ASL di dominio appenninico. Questa osservazione è verificata anche se mappiamo i tassi di prevalenza media annuale per i singoli comuni della regione (fig. 2.10). Una prevalenza media maggiore di 12‰ abitanti si rileva in comuni della zona N-NW della regione, ad eccezione di qualche caso isolato nella parte meridionale.

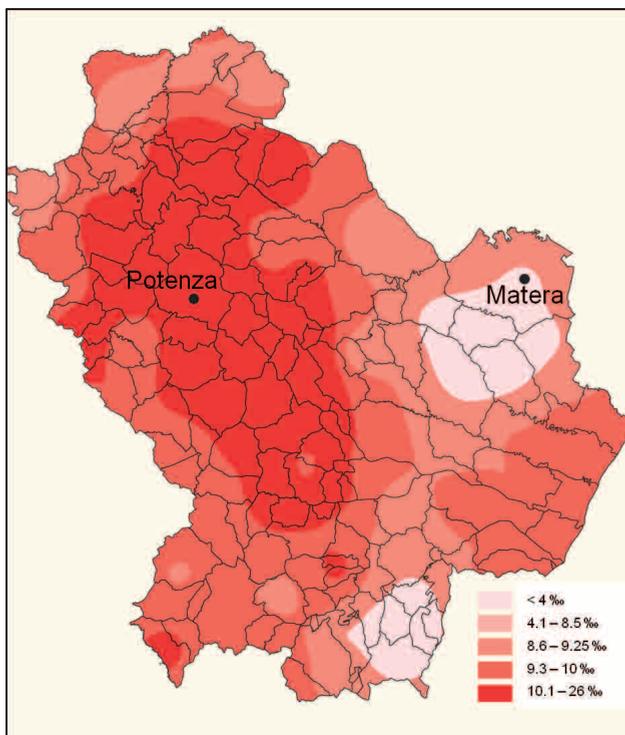


Figura 2.10 Distribuzione dei tassi di prevalenza specifici per il periodo 2003-2005
Distribution of the specific prevalence rate between 2003 and 2005

Il tasso di prevalenza medio massimo che si registra in Basilicata è di 26‰ abitanti ed è registrato per il comune di Castelmezzano. Anche in questo caso i tassi sono stati standardizzati rispetto ad una popolazione media comunale di riferimento, per rendere confrontabili ai tassi di comuni con dimensioni nettamente diverse.

Una correlazione è stata trovata tra le dimensioni dei comuni lucani e la prevalenza di casi di nefrolitiasi (tab. 2.5). La prevalenza in paesi con meno di 5000 abitanti è di 2.3‰, mentre in quelli con più di 5000 abitanti è di 2.11‰. La prevalenza nelle due città capoluogo di province è così distribuita:

Potenza 3.25‰ e Matera 1.10‰. Questi tassi però cambiano quando vengono standardizzati rispetto ad una popolazione media, e si osserva un aumento di casi in corrispondenza dei paesi più popolosi.

Tabella 2.5 Prevalenza di casi di nefrolitiasi in funzione del numero di abitanti
Nephrolithiasis prevalence depending on the number of inhabitants

Abitanti	Prevalenza ‰ (std).
Paesi	
< 5000	2.30 (1.30)
> 5000	2.11 (5.00)
Potenza (69295)	3.25
Matera (57075)	1.10

Grazie al *data base* ospedaliero è stato possibile controllare come l'andamento regionale della malattia si riflette sull'azienda ospedaliera del capoluogo di regione in termini di sesso e fasce di età prevalente.

Per quanto riguarda la prevalenza della nefrolitiasi in base al genere, come per l'andamento medio regionale, anche presso l'ospedale i pazienti di genere maschile sono sempre più numerosi di quelli di genere femminile (fig. 2.11).

I pazienti affetti da nefrolitiasi, ricoverati presso l'ospedale "San Carlo" di Potenza nel periodo 2003-2006, sono stati poi stratificati per fasce di età.

Anche tra questi pazienti, come per l'andamento medio regionale, le fasce più colpite sono quelle tra i 40-59 anni, con un incremento repentino nell'anno 2005 dei malati di età maggiore di 70 anni. Gli adolescenti ed i neonati sono relativamente poco colpiti da questa malattia (fig. 2.12).

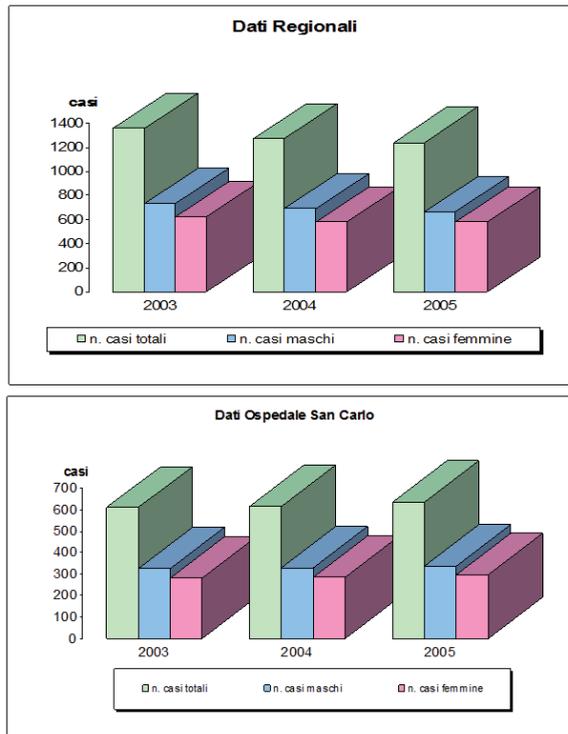


Figura 2.11 Confronto tra i casi di nefrolitiasi suddivisi per anno e per genere, di tutta la regione e della sola azienda ospedaliera “San Carlo” di Potenza
Comparison between nephrolithiasis cases found in the Basilicata region and Potenza “San Carlo” Hospital divided into years and gender

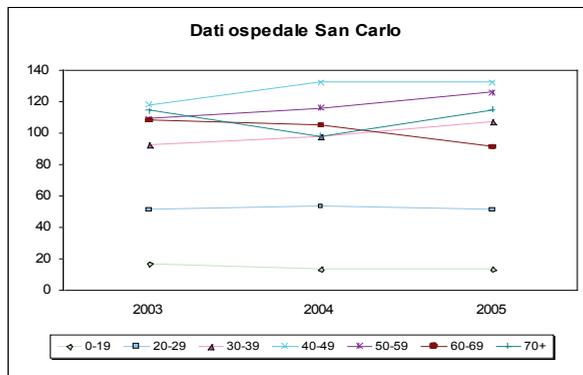


Figura 2.12 Casi di nefrolitiasi nei tre anni di indagine, stratificati per fasce di età, riferiti all’Ospedale “San Carlo” di Potenza
Nephrolithiasis cases stratified by age found in Potenza “San Carlo” Hospital during the 3-year-long study

Per quanto riguarda la provenienza dei ricoverati presso l'ospedale San Carlo, la si evince dalla mappa di percentuale di ricoveri per nefrolitiasi presso l'ospedale San Carlo sui ricoveri regionali totali (fig. 2.13).

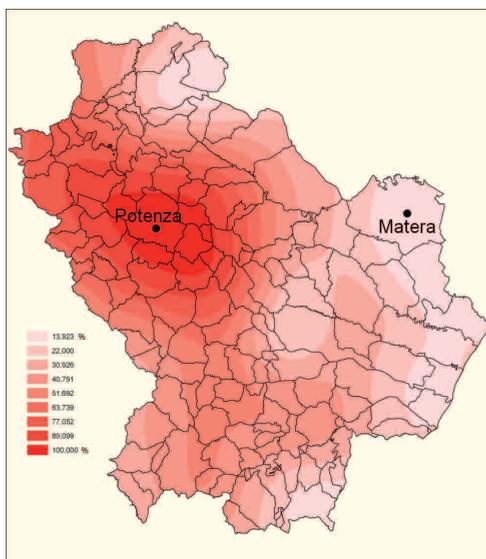


Figura 2.13 Distribuzione della provenienza dei ricoverati presso l'Azienda Ospedaliera "San Carlo"
Distribution of the provenance of patients hospitalized at "San Carlo"

Dall'analisi dei questionari distribuiti su 132 residenti in Basilicata ricoverati nel 2007-2008 presso l'Ospedale "San Carlo" di Potenza, è stato possibile delineare i caratteri prevalenti dei soggetti affetti da nefrolitiasi.

All'interno del gruppo degli intervistati, è ancora maggiore il numero di uomini affetti da nefrolitiasi rispetto alle donne, come per l'andamento medio regionale (fig. 2.14).

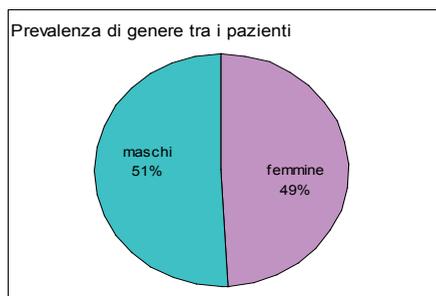


Figura 2.14 Prevalenza di genere tra i pazienti dell'Ospedale "San Carlo" di Potenza
Gender prevalence among the patients hospitalized at "San Carlo"

La fascia di età prevalentemente colpita è quella di 41-60 anni (fig. 2.15).

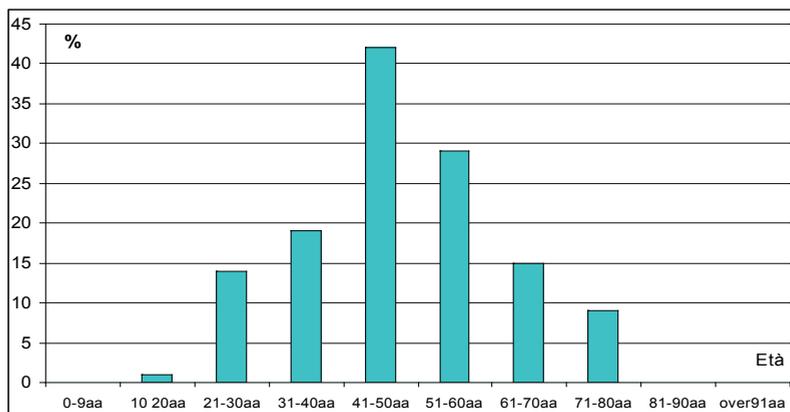


Figura 2.15 Distribuzione della percentuale di prevalenza di nefrolitiasi tra i pazienti dell'Ospedale "San Carlo" di Potenza, in base all'età
Age distribution of nephrolithiasis prevalence among the patients hospitalized at "San Carlo"

L'analisi dei questionari ha consentito anche di fare una valutazione sulla predisposizione fisica alla nefrolitiasi, ottenendo che le persone in sovrappeso sommate a quelle obese (in base al valore dell'Indice di massa corporea) sono più affette da nefrolitiasi (fig. 2.16)

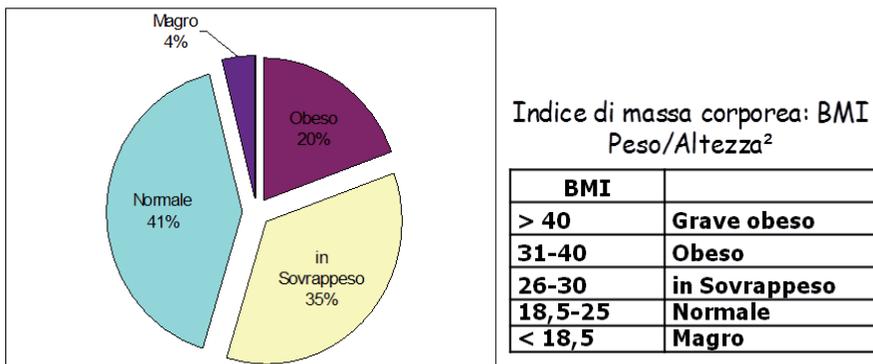


Figura 2.16 Distribuzione della percentuale di prevalenza di nefrolitiasi tra i pazienti dell'Ospedale "San Carlo" di Potenza, in base all'indice di massa corporea
Nephrolithiasis prevalence distribution among the patients hospitalized at "San Carlo" depending on the body mass index

Le risposte più significative ad alcune domande che riguardano le informazioni socio-economiche dei pazienti (tipo di lavoro, attività sportiva) e la loro storia medica (anamnesi personale e familiare, abitudini alimentari), sono riassunte in tabella 2.6.

Tabella 2.6 Percentuali di risposta al questionario epidemiologico riguardanti le informazioni socio-economiche dei pazienti e la loro storia medica

Information on socio-economical conditions and patients' medical history gathered from the epidemiological questionnaire

	Risposta	%
In quale mese soffre maggiormente?	indifferente	80
Aveva già sofferto di calcoli?	si	60
Soffre o ha sofferto di altre malattie?	no	60
Lavora in un ambiente surriscaldato?	no	57
Soffre di eccessiva sudorazione?	no	46
Svolge un lavoro sedentario?	no	55
Svolge regolare attività fisica?	no	55
Qualcun altro della famiglia ha calcoli?	si	47

In particolare sulle abitudini alimentari, nel questionario consegnato ci sono domande specifiche sulle quantità giornaliere e sul tipo di acqua utilizzata per uso potabile (tab. 2.7).

Tabella 2.7 Percentuali di risposta al questionario epidemiologico riguardanti il consumo di acqua e verdura biologica

Information on the use of drinking water and biological vegetables gathered from the epidemiological questionnaire

	Risposta	%
Consuma acqua del rubinetto?	no	64
La preleva da fontane?	no	62
Consuma acqua minerale imbottigliata?	si	83
Consuma verdura biologica?	no	51

I dati più significativi sono rappresentati dal fatto che il 64% degli intervistati dichiara di non consumare acqua del rubinetto e di non prelevarla da fontane nei pressi dell'abitazione. La maggioranza delle persone fa uso di acqua potabile per usi domestici e di acqua imbottigliata per bere, ma non si individua una tipologia prevalente. Il 51% dei pazienti intervistati non fa uso di verdure biologiche coltivate nei pressi della loro abitazione.

Una parte del questionario è dedicata al consumo di alcuni cibi e bevande particolari, anche in termini di frequenza, per valutare la possibilità di ingerire elementi chimici promotori di calcoli attraverso la catena alimentare (es. vegetali ricchi in ossalati).

In tabella 2.8 sono evidenziati in rosso le percentuali che indicano le risposte più frequenti, considerando che ognuno dei cibi elencati sono considerati potenzialmente dannosi per lo sviluppo di calcoli perché apportano nell'organismo gli elementi chimici necessari alla calcogenesi.

Tabella 2.8 Percentuali di risposta al questionario epidemiologico riguardanti le abitudini alimentari
Information on the patients' dietary habits gathered from the epidemiological questionnaire

Consuma	Risponde (% di risposta)				
	ogni giorno	una volta o più alla settimana	una volta o più al mese	mai	non risponde
cereali	55	17	5	22	0
carni	12	83	2	2	1
latte	41	11	17	32	0
uova	5	67	20	5	4
pesce	2	73	17	7	2
spinaci	4	33	29	30	5
bietole	3	34	34	25	4
frutta secca	2	14	42	33	9
cacao	14	30	17	28	10
prodotti caseari	28	58	8	1	5
vino	33	9	12	42	5
birra	4	14	24	49	8
alcolici	1	4	9	73	14
bevande gassate	10	16	18	45	11
caffè	71	6	2	18	3
thè	12	20	17	40	11

2.3.2 I fattori di rischio della nefrolitiasi in Basilicata

Come evidenziato nell'introduzione, già altri studi epidemiologici hanno riguardato le correlazioni fra frequenza-tipologia dei calcoli e fattori geo-ambientali [Chen al. 2000; Daudon et al. 2004; Faggiano et al. 2003; Gambaro et al. 2004; Goldfarb et al. 2005; Hesse et al. 2003; Lee et al. 2002; Leusman et al. 1990; Plata et al. 1998; Ramello et al. 2000; Serio & Fraioli 1999].

L'approccio per la Basilicata è stato quello di valutare prima di tutto se i fattori di rischio per la nefrolitiasi ampiamente riconosciuti a livello mondiale sono applicabili anche in regione e se sono presenti altri fattori peculiari a livello locale non ancora riconosciuti a livello mondiale.

FATTORI DEMOGRAFICI

Il primo fattore di rischio valutato è stato verificare se l'appartenenza al sesso maschile è da considerarsi un rischio per lo sviluppo di calcoli. I risultati sono stati descritti nel paragrafo 2.2.2 per illustrare l'elaborazione dei dati.

Un altro fattore di rischio è l'età del soggetto. La verifica di una associazione tra questo determinante e la malattia è stata fatta con diversi intervalli di età (maggiore di 40 anni, 30-59 anni e 40-59 anni) sulla base dei risultati della prevalenza di calcoli soprattutto tra gli adulti. I due determinanti (genere maschile ed età a rischio) sono stati poi combinati. In tabella sono indicati i valori dell'*Odds ratio* ottenuti dall'associazione e la probabilità espressa come valore p, che indica qual è la probabilità che l'associazione considerata sia dovuta al caso.

Dalla tabella si evince che esiste una associazione positiva tra determinante e malattia, che diventa più che modesta se si combinano più parametri. In tutti i casi la probabilità che questa associazione sia dovuta al caso è molto bassa.

ESPOSIZIONE	Odds Ratio	probabilità
Età (30-59 anni)	1.67	< 0.01
Età (30-59 anni e sesso Maschile)	1.84	< 0.01
Età (30-59 anni e sesso Femminile)	1.48	< 0.01
Età (40-59 anni)	1.74	< 0.01
Età (40-59 anni e sesso Maschile)	1.98	< 0.01
Età (40-59 anni e sesso Femminile)	1.49	< 0.01

Altri fattori demografici, quali razza e casi di familiarità, non sono stati valutati per tutta la popolazione lucana perché non sono informazioni che è stato possibile reperire dalle banche dati regionali per l'intera popolazione colpita da nefrolitiasi nei tre anni di osservazione.

E' possibile fare solo una valutazione sulla popolazione rappresentativa estrapolata dai ricoverati dell'ospedale di Potenza, sulla base dei questionari, come illustrato nel paragrafo 2.3.1.

FATTORI AMBIENTALI E COMPORTAMENTALI

Tra i fattori di rischio ambientali, il primo ad essere stato valutato è il clima inteso come le temperature medie annue a cui sono sottoposti i residenti dei vari comuni lucani.

Sulla base della distribuzione delle temperature medie annue è possibile asserire che è evidente la distribuzione orientata, da nord-ovest verso sud-est, dell'Appennino Lucano, caratterizzata da basse temperature medie annue, soprattutto in prossimità dei rilievi più elevati, come il Mt. Volturino, il Mt. Stringi e il Pollino (9-11 °C). Le zone più calde sono, invece, quelle al livello del mare, soprattutto la pianura metapontina, prospiciente il Mar Ionio (15.5-15.8 °C). Le zone con temperature intermedie corrispondono alla Fossa Pre-Murgiana, confinante con la Puglia, e quella a nord del Mt. Vulture, con il tratto iniziale del bacino dell'Ofanto (14.0-15.0°C).

Non esiste in letteratura una temperatura di riferimento considerata a rischio perché favorente una maggiore disidratazione.

Sulla base dei valori regionali è stata presa in considerazione l'intervallo di temperatura più elevato e su questo dato è stato improntato il calcolo dell'associazione tra prevalenza di nefrolitiasi ed alte temperature. Il calcolo è stato poi ripetuto per altri intervalli di temperatura via via più bassi.

Alla luce di queste verifiche è stato preso in considerazione l'intervallo di $T > 13^{\circ}\text{C}$, includendo nel calcolo tutte le zone al livello del mare e le aree temperate intermedie, quale temperatura che espone ad un maggiore rischio di sviluppo di calcoli. I calcoli dell'*odds ratio* hanno dato i seguenti risultati.

Fino ad una temperatura di 13°C si osserva che non esiste una associazione

ESPOSIZIONE	Odds Ratio	probabilità
Temperatura media annua ($> 13.1^{\circ}\text{C}$)	0.73	< 0.01
Temperatura media annua ($> 13.1^{\circ}\text{C}$ e sesso Maschile)	0.71	< 0.01
Temperatura media annua ($> 13.1^{\circ}\text{C}$ ed età ≥ 40 anni)	0.76	< 0.01
Temperatura media annua ($> 13.1^{\circ}\text{C}$ ed età 40-59 anni)	0.78	< 0.01
Temperatura media annua ($> 13.1^{\circ}\text{C}$ e Maschi di età 40-59 anni)	0.78	< 0.01

positiva tra l'esposizione e la nefrolitiasi, anche quando vengono valutati insieme gli altri fattori di rischio individuati fino ad ora. Dal momento che il valore dell'*odds ratio* è inferiore all'unità, l'esposizione in esame è da considerarsi non come fattore di rischio ma bensì come fattore protettivo.

In corrispondenza dei rilievi più elevati della regione si registrano le temperature medie annue più basse. La quota altimetrica, quindi, come per le temperature può essere correlata allo sviluppo di calcoli renali. Anche in questo caso non esiste un riferimento bibliografico circa l'altitudine massima oltre la quale si registra un rischio maggiore. La correlazione è stata perciò calcolata per intervalli differenti, fino a trovare un'associazione positiva con la nefrolitiasi con le quote superiori a 600 metri s.l.m.

Tra i fattori di rischio legati alle abitudini alimentari, rientra l'assunzione dei liquidi

ESPOSIZIONE	Odds Ratio	probabilità
Altitudine > 600 m	1.51	< 0.01
Altitudine e maschi	1.53	< 0.01
Altitudine e femmine	1.49	< 0.01
Altitudine e 40 -59	1.39	< 0.01
Altitudine e Maschi con età 40-59anni	1.41	< 0.01

e in particolare dell'acqua. Dai dati di letteratura è emersa la controversia tra chi suggerisce l'utilizzo di acqua ricca in calcio e chi la sconsiglia in casi di nefrolitiasi.

Ammettendo che il consumo di acque poco dure favorisce la prevenzione dallo sviluppo di calcoli, è stato valutato, quale fattore di rischio, la maggiore durezza delle acque.

La durezza è una caratteristica naturale dell'acqua, che deriva sostanzialmente

dalla presenza in soluzione di ioni Ca^{2+} e Mg^{2+} ; essa è infatti definita come la concentrazione totale di calcio e magnesio, ed è espressa in milligrammi di carbonato di calcio CaCO_3 presenti in un litro d'acqua. L'unità di misura più utilizzata è il grado francese ($^\circ\text{f}$), che corrisponde a 10 milligrammi/litro di CaCO_3 .

Sulla base dei dati messi a disposizione dell'Acquedotto Lucano per l'anno 2006, ad ogni comune è stato assegnato un valore di durezza delle acque. Sulla base della più diffusa classificazione delle durezza, le acque sono state classificate in poco dure (durezza $<$ a 15°f), mediamente dure (durezza compresa tra i 15°f e i 30°f) e dure (con durezza $>$ di 30°f) (Limiti di legge previsti dal D.Lgs. 31/2001). Per il calcolo a livello regionale è stato assunto un rischio a partire da una durezza maggiore di circa 30°f , ma è stata valutata l'associazione anche per un rischio pari ad una durezza maggiore a 22.5°f , intermedia tra i valori corrispondenti ad una durezza media.

ESPOSIZIONE	Odds Ratio	probabilità
Acque dure ($> 22.5^\circ\text{f}$) dove un grado rappresenta 10 mg di carbonato di calcio (CaCO_3) per litro di acqua	1.27	< 0.01
Acque dure ($> 30^\circ\text{f}$)	1.36	< 0.05
Acque dure e sesso maschile	1.80	< 0.01
Acque dure e sesso femminile	1.29	< 0.01
Acque dure ed et \hat{a} 40-59anni	0.99	< 1
Acque dure e Maschi con et \hat{a} 40-59anni	1.22	< 0.6

In Basilicata, alla luce di questi dati, è possibile ipotizzare che un consumo di acque ricche in calcio favorisce ulteriormente lo sviluppo di nefrolitiasi. Come si può osservare dalla tabella alcuni valori dell'*odds ratio* non sono statisticamente significativi (righe in grigio) a causa dell'esiguo numero di casi registrati.

In base alla distribuzione dei tassi di prevalenza in regione, che segnalano una maggiore diffusione della malattia in aree appenniniche, il calcolo dell'*odds ratio* è stato fatto considerando a rischio la residenza in regioni pedologiche appenniniche.

ESPOSIZIONE	Odds Ratio	probabilità
Regioni pedologiche appenniniche	1.37	< 0.01
Regioni pedologiche appenniniche e maschi	1.34	< 0.01
Regioni pedologiche appenniniche e >40 anni	1.34	< 0.01
Regioni pedologiche appenniniche e 40 -59 anni	1.43	< 0.01
Regioni pedologiche appenniniche e 30 -59 anni	1.40	< 0.01
Regioni pedologiche appenniniche e Maschi con et \hat{a} 40-59anni	1.41	< 0.01

Con i dati a disposizione dalla carta pedologica della Regione Basilicata [2006], è stato possibile investigare un secondo livello di pedopaesaggio, più dettagliato, che identifica le province pedologiche (fig. 2.17). In regione ne sono state riconosciute 15, distinte sulla base di importanti fattori ambientali che influenzano la formazione dei suoli, in particolare morfologici, litologici e climatici.

Per lo studio in questione, è stata confrontata la prevalenza di nefrolitiasi in due province suddivise per aspetti climatici: le province n. 1 e 5, che distinguono, all'interno dei rilievi appenninici, le aree poste a quote superiori ai 1000 metri. Sempre per ragioni climatiche sono state confrontate la provincia n. 3 dei rilievi del versante tirrenico, con la provincia n. 2 dei rilievi interni occidentali.

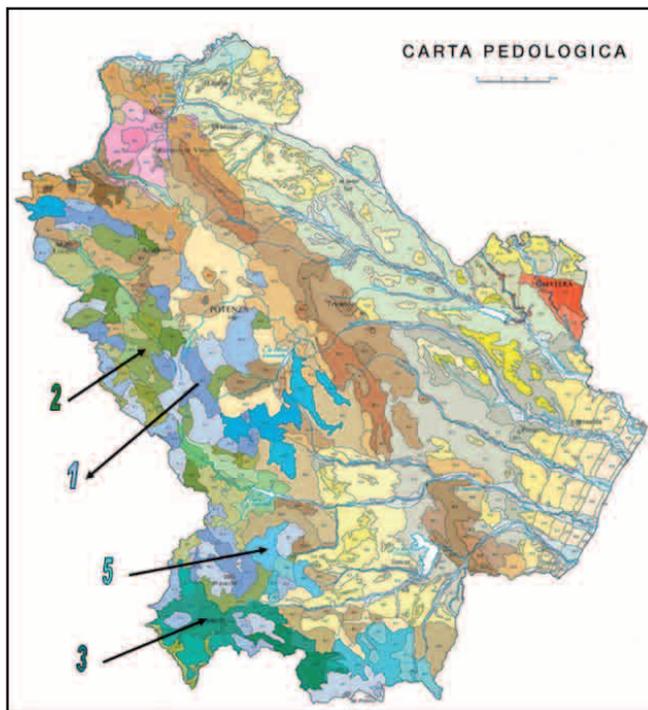


Figura 2.17 Province pedologiche utilizzate per lo studio di associazione [DASREM 2006]
Pedological provinces selected for the statistical study

In entrambi i casi, però, i valori ottenuti dalle associazioni non possono essere presi in considerazione perché non ritenuti statisticamente significativi, come dimostrato dai risultati di test statistici (righe in grigio in tabella).

Lo stesso caso si è verificato quando è stata determinata un'associazione tra prevalenza di nefrolitiasi ed aree vulnerabili a nitrati di origine agricola. I test statistici dichiarano che le associazioni potrebbero essere dovute al caso.

ESPOSIZIONE	Odds Ratio	probabilità
Provincia pedologica 2 vs. 3	1.16	< 0.1
Provincia pedologica 2 vs. 3 e maschi	1.26	< 0.05
Provincia pedologica 2 vs. 3 e >40 anni	1.28	< 0.05
Provincia pedologica 2 vs. 3 e 40 -59 anni	1.06	< 1
Provincia pedologica 2 vs. 3 e 30 -59 anni	1.11	< 0.5
Provincia pedologica 2 vs. 3 e Maschi con et à 40-59anni	1.21	< 0.5

ESPOSIZIONE	Odds Ratio	probabilità
Aree vulnerabili a nitrati di origine agricola	1.00	< 1
Aree vulnerabili e maschi	1.08	< 0.5
Aree vulnerabili e >40 anni	0.97	< 0.5
Aree vulnerabili e 40 -59 anni	0.98	< 1
Aree vulnerabili e 30 -59 anni	1.01	< 1
Aree vulnerabili e Maschi con et à 40-59anni	1.03	< 1

La presenza di un'elevata percentuale di carbonato di calcio nei suoli agricoli può essere un fattore di rischio per la nefrolitiasi in quanto, dal suolo, attraverso le piante, può entrare nel ciclo alimentare e contribuire al bilancio globale di carbonati ingeriti. La disponibilità di una carta regionale dei carbonati è stata l'occasione per la determinazione di una possibile associazione. La carta dei carbonati si riferisce al contenuto in carbonati totali nella terra fine degli orizzonti superficiali del suolo, nei suoli agricoli e dell'orizzonte arato. Il fattore di esposizione al rischio è stato considerato pari ad una concentrazione di carbonato di calcio superiore al 10% che corrisponde ad aree contenute calcareo da molto a fortemente elevato.

ESPOSIZIONE	Odds Ratio	probabilità
Carbonati	0.75	< 0.01
Carbonati e maschi	0.75	< 0.01
Carbonati e >40 anni	0.76	< 0.01
Carbonati e 40 -59 anni	0.70	< 0.01
Carbonati e 30 -59 anni	0.72	< 0.01
Carbonati e Maschi con et à 40-59anni	0.72	< 0.01

Il valore dell'*odds ratio* segnala che non esiste rischio per questa esposizione.

2.4 DISCUSSIONE

I risultati di questo studio epidemiologico speditivo forniscono un modesto supporto alle conoscenze della prevalenza della nefrolitiasi con particolare riguardo alla sua distribuzione geografica ed ai fattori che la determinano.

Pochi studi sono stati svolti sulla prevalenza di nefrolitiasi in Italia [Baggio 1999; Bellizzi et al. 1999; Borghi et al. 1990, 2006; Marangella et al. 1982; Pavone-Macaluso & Miano 1979; Ramello et al. 2000; Serio & Fraioli 1999], e il presente lavoro è il primo eseguito in Basilicata [Giannossi et al. 2008, 2009].

Il carattere speditivo dello studio epidemiologico eseguito, sottostima la reale prevalenza di nefrolitiasi in Basilicata. Considerando i soli casi ospedalizzati, il tasso dovrebbe essere raddoppiato considerato che in media il 51% degli affetti da nefrolitiasi non viene ricoverata [Hiatt et al. 1982; Johnson et al. 1979].

Pur ammettendo questa correzione, la stima del tasso sarebbe comunque in difetto visto che per le caratteristiche della patologia, molte persone ignorano di avere calcoli renali perché asintomatici o perché non diagnosticati correttamente.

Per questi motivi la ricerca del tasso di prevalenza assoluto è uno studio alquanto complicato che esula comunque dalle finalità della ricerca di dottorato.

Si potrebbe pensare che le vie di accesso alle strutture ospedaliere potrebbe influire sulla distribuzione geografica della prevalenza di nefrolitiasi in regione [Hiatt et al. 1982; Landes 1975], se questo fosse vero non si registrerebbero degli alti tassi nella parte sud della regione o, al contrario, dei tassi così bassi nella provincia di Matera.

La prevalenza media per la regione Basilicata calcolata sui tre anni di osservazione (2003-2005) è di 6.49‰ con una maggiore prevalenza tra gli uomini (7.12‰) che tra le donne (5.89‰). Questa differenza è statisticamente significativa (99% di confidenza).

Da questo si deduce che il rischio relativo per un uomo rispetto ad una donna è di 1.2:1, che significa che un uomo ha il 20% in più di probabilità di sviluppare calcoli renali. Questo conferma i risultati di Serio & Fraioli [1999] e di Borghi et al. [1990] che indicano un rischio relativo di 1.25 e 1.5 rispettivamente, ma è molto più basso del valore di 4 che è quello stabilito dalla Consensus Conference [1988].

Non è ancora chiaro il perché di questa differenza di genere: una ipotesi potrebbe essere che le donne abbiano nelle urine una maggiore concentrazione di citrati i quali agiscono come forti inibitori [Johnson et al. 1979; Parks & Coe 1986].

Anche prendendo una porzione della popolazione regionale, pari alla sola popolazione che si ricovera presso l'Azienda Ospedaliera del capoluogo di

regione, i pazienti di genere maschile sono sempre più numerosi di quelli di genere femminile. Questo è il primo dei tanti motivi a supporto della possibilità di utilizzare i ricoverati di questa struttura come popolazione di riferimento per elaborazioni successive.

Anche il valore dell'*odds ratio* ha confermato che esiste un'associazione positiva tra lo sviluppo di nefrolitiasi e l'appartenenza al genere maschile, anche se l'associazione si presenta debole, probabilmente correlata alla tipologia di calcolo che colpisce le donne, che pur essendo colpite meno degli uomini, producono calcoli con complicazioni tali da ricorrere più frequentemente a cure ospedaliere.

Precedenti studi mostrano che l'età compresa tra i 30 ed i 60 anni è la fascia di età più colpita da nefrolitiasi [Borghini et al. 1993; Daudon et al. 2004; Faggiano et al. 2003; Fan et al. 1999; Johnson et al. 1979]. In particolare in Basilicata la nefrolitiasi colpisce maggiormente la fascia di età 50-59 anni.

Il tasso di prevalenza determinato per i residenti di età superiore ai 19 anni è pari al 7.91%, discostandosi dal valore determinato da Borghini et al. [1990] per il nord Italia (da 5.3 a 6.1%). Questa differenza è dovuta, probabilmente, alla differente stratificazione della popolazione tra il nord ed il sud, senza dimenticare le differenze di tipologia di studio epidemiologico.

Sia tra uomini che tra le donne residenti in Basilicata, la prevalenza di nefrolitiasi aumenta con l'età in accordo con quanto si verifica in altre regioni e nazioni [Ljunghall et al. 1975; Robertson et al. 1984]. Il calcolo dell'associazione statistica tra questo determinante e la patologia conferma un rischio più elevato per gli uomini nella fascia di età 40-59 anni.

Una maggiore prevalenza di nefrolitiasi si osserva in corrispondenza dei centri abitati con più di 5000 abitanti. Tale correlazione non può essere spiegata solo con la vicinanza a strutture ospedaliere, considerata la bassa prevalenza registrata per Matera (uno dei due capoluoghi di provincia), ma può essere connessa alla maggiore concentrazione nei grandi centri di persone appartenenti alla fascia di età 40-60 più propensa a sviluppare calcoli. Nei piccoli paesi la popolazione risulta avere un'età media più alta a causa dello spopolamento dei centri abitati rurali ed al calo demografico.

Nella maggior parte degli studi si evidenzia come la nefrolitiasi non è molto diffusa tra i bambini, anche considerando diverse nazioni. La prevalenza oscilla tra il 2 e 2.7% [Borghini et al. 1990; Vahlensieck et al. 1982]. E' quindi più facile trovare studi eseguiti su una popolazione di età superiore ai 19 anni [Serio & Fraioli 1999; Borghini et al. 1990; Stamatelou et al. 2003; Trinchieri et al. 2000]. La prevalenza di nefrolitiasi tra bambini in Basilicata è molto bassa (1.2%).

Altri fattori di rischio di tipo demografico sono stati valutati solo sul campione di popolazione intervistato, ma la mancanza di ricoveri di persone extracomunitarie residenti in regione non mi ha consentito di valutare l'effetto dell'appartenenza ad etnie diverse sullo sviluppo di calcoli.

Anche se gran parte dei pazienti intervistati ha affermato di avere familiari che sono stati o sono affetti da nefrolitiasi, il dato non è pienamente a supporto dell'ipotesi di un fattore ereditario predominante per questa patologia. I membri di una stessa famiglia dividono non solo lo stesso patrimonio genetico ma anche lo stesso stile di vita e specialmente le stesse abitudini alimentari.

Al contrario un fattore che aumenta il rischio di sviluppo di calcoli renali è il peso corporeo eccessivo. Come si osserva in altri lavori [Siener et al. 2004; Taylor et al. 2005] anche tra i pazienti lucani il numero di persone obese e/o in sovrappeso è significativamente più alto. Leonetti et al. [1998] forniscono anche una visione alternativa: l'elevato peso corporeo potrebbe essere considerato non un fattore di rischio diretto, ma legato ad un altro fattore come l'iperossaluria.

Il tasso di prevalenza, alla scala di dettaglio, è aumentato notevolmente se paragonato al tasso medio regionale, raggiungendo valori superiori all'11‰ per l'ASL di Potenza, valore assolutamente non influenzato dalle dimensioni areali in quanto frutto di calcoli su una popolazione standardizzata che appiattisce l'effetto della dimensione areale delle ASL.

L'elevata deviazione standard del tasso medio regionale già faceva presagire una variabile interna del dato. Variabilità che si manifesta in modo ancora più evidente con il calcolo del tasso di prevalenza medio comunale. Oltre ad osservare un aumento del tasso si osserva una distribuzione areale significativa.

I comuni che mostrano una prevalenza di sviluppo di calcoli più elevata si distribuiscono nella parte centro-occidentale della regione, con maggiore prevalenza nella parte settentrionale. Quest'area a rischio corrisponde arealmente con quella Appenninica.

Questa distribuzione anticipa il risultato del calcolo della misura di associazione tra nefrolitiasi ed alcune caratteristiche ambientali della Basilicata.

Dal risultato dell'associazione tra temperatura e prevalenza di calcoli in regione è emerso che una temperatura media annua superiore ai 13°C è un fattore di protezione contro lo sviluppo di calcoli, in contrasto con l'ipotesi che le aree a clima più caldo siano più colpite da questa patologia a causa di una maggiore disidratazione del corpo umano con conseguente diminuzione del volume urinario [Curhan et al. 1994b; Pak et al. 1980; Vitale et al. 1996].

Questo risultato può essere spiegato evidenziando che le comunità che risiedono in zone al livello del mare e nelle zone temperate intermedie, sono in

un certo modo educate ad ingerire maggior quantità di liquidi, al contrario delle zone più fredde dove lo stimolo ad abbeverarsi è ridotto [Borghesi et al., 2006; Frank et al., 1966]. Nessuna raccolta urinaria è stata eseguita sui pazienti della popolazione campione per poterne valutare il volume.

Tra gli intervistati non ci sono segnali di significative variazioni stagionali nello sviluppo dei calcoli né tantomeno nel dolore a loro associato. Infatti, l'80% dei soggetti affetti da nefrolitiasi dichiara che non c'è un periodo specifico durante il quale soffre maggiormente di calcoli renali.

Controllando, poi, il periodo di "espulsione", volontaria o chirurgica, dei calcoli raccolti per il prosieguo dell'attività di ricerca, nessuna stagione risulta essere la favorita (inverno 29%, estate 27%, primavera 25%, autunno 13%), anche se si segnala una bassa percentuale per la stagione autunnale.

La distribuzione areale delle zone fredde della regione ricalca la distribuzione delle aree a maggiore quota sul livello del mare. Nelle stesse aree si registra una minore radiazione solare che sappiamo essere collegata ad una maggiore produzione di vitamina D che a sua volta stimola l'assorbimento intestinale di calcio, l'elemento principale dei calcoli renali.

Sulla base dell'analisi statistica, la combinazione di questi fattori potrebbe spiegare il perché della distribuzione di una maggiore prevalenza di nefrolitiasi proprio in quelle aree.

A supporto di ciò, ritroviamo anche l'associazione positiva tra prevalenza di nefrolitiasi e regioni pedologiche di tipo appenninico che delimitano le stesse zone di maggior rischio.

Questa associazione però è da considerarsi ingannevole perché non direttamente correlata alle diverse tipologie del suolo ma correlata alle variabili al contorno come clima, morfologia e altitudine, che regolano i processi pedogenetici. Sono loro a determinare la potenza dell'associazione, come visto prima. Questa ipotesi scaturisce anche dalle risposte della popolazione campione intervistata che dichiara, per la maggior parte, di non coltivare prodotti biologici in queste zone e di non farne uso frequente nella dieta.

I fattori di rischio ambientale sinora riscontrati sono da considerarsi fattori secondari perché hanno una influenza indiretta sul processo di mineralizzazione in quanto influenzano il corpo umano dall'esterno. Le basse temperature, l'altitudine, la radiazione solare, le caratteristiche del suolo, influenzano lo stile di vita dei residenti favorendo, ad esempio, un maggior apporto di proteine animali nella dieta, che favoriscono lo sviluppo di calcoli [Elsenteln et al. 2002; Goldfarb 1988].

Molti autori sostengono che l'ambiente influenza lo sviluppo di calcoli renali

ma la sua azione agisce maggiormente sui soggetti adulti, mentre negli infanti o adolescenti il fattore ereditario ha un peso maggiore non avendo avuto ancora la “possibilità” di farsi influenzare dall’ambiente esterno o aver acquisito degli stili di vita a rischio [Sowers et al., 1998].

Tra i fattori ambientali che influenzano direttamente lo sviluppo dei calcoli dall’interno dell’organismo umano, ritroviamo sicuramente l’alimentazione intesa come cibo e liquidi ingeriti.

In Basilicata si registra una correlazione positiva tra sviluppo di calcoli renali e consumo di acque dure. L’associazione aumenta se le acque dure sono consumate dagli uomini.

Se si considera che una buona percentuale (40% circa) di persone intervistate dichiara di fare uso di acque potabili non imbottigliate, allora la possibilità che la qualità delle acque influisca sullo stato di salute dei residenti aumenta.

La popolazione lucana, però, consuma in prevalenza acqua imbottigliata (83%). La diffusa considerazione che le acque dure favoriscano lo sviluppo dei calcoli, porta la maggior parte a scegliere di consumare acque da mediamente a poco dure.

Questo risultato stride con il ritrovamento di un’associazione negativa tra alto contenuto di carbonati nel suolo e nefrolitiasi, a significare che un’alta percentuale di carbonati nel suolo, pur incrementando il bilancio di assorbimento di calcio nel corpo umano, ha un effetto protettivo nei confronti della patologia in esame.

Non è possibile però asserire che il consumo di acque poco dure sia preferibile per evitare il rischio di formazione di calcoli renali, in quanto solo dopo una corretta identificazione della tipologia di calcolo dal quale si è affetti si può optare per un’acqua poco dura o dura a seconda di quali effetti si vuole ottenere: alcalinizzanti o acidificanti.

E’ per questo che l’attività di ricerca ha puntato all’identificazione dei componenti maggiori e minori di tutti i calcoli “prodotti” da residenti in Basilicata. Questo è importante per fornire un supporto farmacologico e dietetico nella fase di trattamento della patologia.

Per quanto riguarda le altre abitudini alimentari, si osserva che tra gli intervistati c’è un elevato consumo di carne e di cibi che contengono ossalato di calcio, quali spinaci, bietole e frutta secca. Anche l’abuso di caffè, cacao e prodotti caseari non deve sorprendere in soggetti affetti da calcoli renali, mentre sorprende il consumo assente di thè, bevande gassate ed alcolici tra i quali la birra ed il vino.

Al contorno, gli altri fattori di rischio valutati riguardano stili di vita non corretti. Analizzando le percentuali delle risposte ad alcune domande che riguardano le informazioni socio-economiche dei pazienti (tipo di lavoro, attività

sportiva) si osserva che:

- una maggioranza di persone non svolgono attività fisica e/o svolgono un lavoro sedentario;
- l'ambiente di lavoro è surriscaldato e soffrono di sudorazione eccessiva non solo durante i mesi estivi.

Maggiormente interessanti sono le risposte legate alla loro storia medica (anamnesi personale e familiare):

- non si riscontrano correlazioni tra nefrolitiasi ed altre malattie;
- il numero dei pazienti che ha già sofferto di nefrolitiasi è pari al 60% degli intervistati, quindi è diffuso il problema delle recidive.

Quest'ultima informazione sarà ripresa in seguito all'analisi di calcoli renali collezionati in tre anni di raccolta (2006-2008).

Sui tre anni di osservazione epidemiologica, invece, non è stato possibile risalire alle informazioni sulla composizione dei calcoli, informazione non contenuta nei *data base* ospedalieri (perché non è una analisi di routine come avviene per le urine) né tantomeno in quelli regionali, e questo ha limitato la possibilità di trarre conclusioni.

La presente indagine di epidemiologia geografica ha consentito comunque di fotografare la distribuzione spaziale della prevalenza di nefrolitiasi su tutto il territorio regionale e di evidenziare i comuni o le aree particolarmente affette da un rischio sulla base di fattori demografici, ambientali e comportamentali.

2.5 BIBLIOGRAFIA

- Ackermann D, Baumann JM, Futterlieb A & Zingg EJ (1988). Influence of calcium content in mineral water on chemistry and crystallization conditions in urine of calcium stone formers. *Eur Urol* 14: 305-308.
- Akinci M, Esen T & Tellaloglu S (1991). Urinary stone disease in Turkey: an updated epidemiological study. *Eur Urol* 20: 200–203.
- Baggio B (1999). Genetic and dietary factors in idiopathic calcium nephrolithiasis. What do we have, what do we need?. *J Nephrol* 12: 371-374.
- Barberis E (1996). Il suolo inquinato: una possibile bomba chimica ad orologeria. *Argille e Minerali delle Argille*, vol. III: 249-260.
- Bellizzi V, De Nicola L & Minutolo R (1999). Effects of water hardness on urinary risk factors for kidney stones in patients with idiopathic nephrolithiasis. *Nephron*. 81(suppl. 1): 66-70.
- Borghi L, Meschi T, Amato F, Briganti A, Novarini A & Giannini A (1996). Urinary volume, water and recurrences in idiopathic calcium nephrolithiasis: a 5-year randomized prospective study. *Journal of Urology* 155: 839-843.
- Borghi L, Meschi T, Maggiore U & Prati B (2006). Dietary therapy in idiopathic nephrolithiasis. *Nutrition reviews* 64 (7): 301-312.
- Chen Y, Roseman JM, Devivo MJ & Huang C (2000). Geographic variation and environmental risk factors for the incidence of initial kidney stones in patients with spinal cord injury. *Journal of urology* 164: 21-26.
- Churchill DN, Maloney CM, Bear J, Bryant DG, Fodor G & Gault MH (1980). Urolithiasis a study of drinking water hardness and genetic factors. *J Chronic Dis* 33: 727–731.
- Consensus Conference (1988). Prevention and treatment of kidney stones. *JAMA*. 260: 977.
- Curhan GC, Willett WC, Rimm EB & Stampfer MJ (1993). A prospective study of dietary calcium and other nutrients and the risk of symptomatic kidney stones. *N Engl J Med* 328: 833-838.
- Curhan GC & Curhan SG (1994a). Dietary factors and kidney stone formation. *Compr Ther*. 20: 485-489.
- Curhan GC, Rimm EB, Willett WC & Stampfer MJ (1994b). Regional variation in nephrolithiasis incidence and prevalence among United States men. *J Urology* 151: 838-841.
- DASREM (2006). AA.VV. I suoli della Basilicata. Carta pedologica della Regione Basilicata in scala 1:250000. Dipartimento Agricoltura, Sviluppo Rurale, Economia Montana, Regione Basilicata.
- Daudon M, Dore JC, Jungers P & Lacourt B (2004). Changes in

stone composition according to age and gender of patients: a multivariate epidemiological approach. *Urological research* 32(3): 241-247.

▪ Decreto 31 maggio 2001. G U della Repubblica Italiana del 27.06.2001, Serie Generale N. 147, concernente il regolamento recante i criteri di valutazione delle caratteristiche delle acque minerali naturali.

▪ Elsenateln J, Roberts SB, Dallal G & Saltzman E (2002). High-protein weight-loss diets: are they safe and do they work? A review of the experimental and epidemiologic data. *Nutr Rev* 60: 189-200.

▪ Faggiano A, Pivonello R, Melis D, Filippella M, Di Somma C, Peretta M, Lombardi G & Colao A (2003). Nephrolithiasis in Cushing's disease: Prevalence, etiopathogenesis, and modification after disease cure. *Journal of clinical endocrinology and metabolism* 88(5): 2076-2080.

▪ Fan J, Chandhoke PS & Graampas SA (1999). Role of sex hormones in experimental calcium oxalate nephrolithiasis. *J Am Soc Nephrol.* 10: 376-380.

▪ Felici ML (2005). Fattori ambientali e salute: il ruolo degli elementi in traccia nella salute umana. *Periodico Trimestrale della Società Italiana di Geologia Ambientale.* Anno XIII, n. 3: 8-15.

▪ Frank M, De Vries A & Tikva P (1966). Prevention of urolithiasis. *Arch Environ Health.* 13: 625-630.

▪ Gambaro G, Reis-Santos JM & Rao N (2004). Nephrolithiasis: Why doesn't our "learning" progress?. *European urology* 45(5): 547-556.

▪ Giannossi ML, Mongelli G, Summa V & Tateo F (2008): Progetto di studio epidemiologico sulla urolitiasi in Basilicata (Italia): correlazione con fattori ambientali. *Quaderni del Centro di Geobiologia – Università degli studi di Urbino "Carlo Bo". ARACNE editrice* 5/2008: 59-66.

▪ Giannossi ML, Summa V & Procida M (2009). Epidemiological study of nephrolithiasis in a southern Italian Region (Basilicata): prevalence, and incidence. *European Journal of Epidemiology* (sottomesso alla rivista).

▪ Goldfarb DS, Fischer ME, Keich Y & Goldberg J (2005). A twin study of genetic and dietary influences of nephrolithiasis: a report from the Vietnam Era Twin (VET) Registry. *Kidney International* 67: 1053-1061.

▪ Goldfarb S (1988). Dietary factors in the pathogenesis and prophylaxis of calcium nephrolithiasis. *Kidney Int* 34: 544-555.

▪ Hesse A (1988). Zur Epidemiologie des Harnsteinleidens. *J Clin Chem Clin Biochem* 26: 841-842.

▪ Hesse A, Bach D & Vahlensieck W (1981). Epidemiology survey on urolithiasis in the German Federal Republic. In: Brockis JG, Finlayson B (eds) *Urinary calculus.* PSG, Littleton, pp 25-33.

- Hesse A, Brandle E, Wilbert D, Kohrmann KU & Alken P (2003). Study on the prevalence and incidence of urolithiasis in Germany comparing the years 1979 vs. 2000. *European urology* 44(6): 709-713.
- Hiatt RA, Dales LG, Friedman GD & Hunkeler EM (1982). Frequency of urolithiasis in a prepaid medical care program. *Am J Epidemiol* 115: 255-265.
- Johnson CM, Wilson DM, O'Fallon WM, Malek RS & Kurland LT (1979). Renal stone epidemiology: a 25-year study in Rochester, Minnesota. *Kidney Int.* 16: 624-631.
- Joost J, Egger G, Hohlbrugger G & Marberger H (1980). Epidemiologie des Nierensteinleidens in Tirol. *Oesterr Arzttg* 35: 1016-1020.
- Komatina MM (2004). *Medical Geology: Effects of geological environments on human health.* Elsevier: pp. 488.
- Last JM (2001). *A Dictionary of Epidemiology*, seconda edizione.
- Lee YH, Huang WC, Tsai JY, Lu CM, Chen WC, Lee MH, Hsu HS, Huang JK & Chang LS (2002). Epidemiological studies on the prevalence of upper urinary calculi in Taiwan. *Urologia internationalis* 68(3): 172-177.
- Leonetti F, Dussol B, Bethzene P, Thirion X & Berland Y (1998). Dietary and urinary risk factors for stones in idiopathic calcium stone formers compared with healthy subjects. *Nephrology dialysis transplantation* 13(3): 617-622.
- Leusmann DB, Blaschke R & Schmandt W (1990). Results of 5035 stone analyses: a contribution to epidemiology of urinary stone disease. *Scand J Urol Nephrol.* 24: 205-210.
- Ljunghall S & Hedstrand H (1975). Epidemiology of renal stones in a middle-aged male population. *Acta Med Scan.* 197: 439.
- Marangella M, Tonengo S & Bruno M (1982). Epidemiologia della urolitiasi in Piemonte. *Minerva Nefrol.* 30: 19-24.
- Neri LC, Hewitt D, Schreiber GB, Anderson TW, Mandel JS & Zdrojewsky A (1975). Health Aspects of Hard and Soft waters. *J. Am. Water Works Assoc.* 67: 403-409.
- Nielsen JB & Jensen TK (2005). *Environmental Epidemiology.* In: Selinus O., Alloway B., Centeno J.A., Finkelam R.B., Fuge R., Lindh P., Smedley P. (eds). *Essential of Medical Geology.* Elsevier Academic press. 21: 529-540.
- Pak CYC, Sakhace K, Crowther C & Brinkley L (1980). Evidence justifying a high fluid intake in treatment of nephrolithiasis. *Ann Intern Med* 93: 36-39.
- Parks JH & Coe FL (1986). A urinary calcium-citrate index for the evaluation of nephrolithiasis. *Kidney Int.* 30: 85-90.
- Pavone-Macaluso M & Miano L (1979). Epidemiology of urolithiasis in Italy. XVIII Congrès de la Societè Internationale d'Urologie. Pp: 113-137. Paris, Italy.

- Petracchia L, Liberati G, Masciullo SG, Grassi M & Fraioli A (2006). Water, mineral waters and health. *Clinical nutrition* 25: 377-385.
- Plata R, Silva C, Yahuita J, Perez L, Schieppati A & Remuzzi G (1998). The first clinical and epidemiological programme on renal disease in Bolivia: a model for prevention and early diagnosis of renal disease in the developing countries. *Nephrol. Dial. Transplant* 13: 3034-3036.
- Ramello A, Vitale C & Marangella M (2000). Epidemiology of nephrolithiasis. *Journal of nephrology* 13: S45-S50.
- Regione Basilicata (2007). Piano Regionale di Tutela delle Acque. D.Lgs 152/06 art 121. Suppl. Bollettino Ufficiale n. 57 del 16/12/2008.
- Reis Santos JM (1995). Studies on the prevalence of renal stones disease in Portugal: regional variations. In: Rao PN, Kavanagh JP, Tiselius HG (eds) *Urolithiasis: consensus and controversies*. University Hospitals, Manchester, pp. 262.
- Robertson WG, Peacock M, Baker M, Marshal DH, Pearlman B, Speed R, Sergeant V & Spith A (1984). Epidemiological studies on the prevalence of urinary stone disease in Leeds. In: Ryall RL et al. (eds). *Urinary stone*. Churchill and Livingston, Melbourne. p. 6.
- Robertson WG, Peacock M & Baker M (1983). Studies on the prevalence and epidemiology of urinary stone disease in men in Leeds. *Br J Urol* 55: 595-598.
- Rodgers AL (1997). Effect of mineral water containing calcium and magnesium on calcium oxalate urolithiasis risk factors. *Urol Int.* 58: 92-99.
- Schwille PO & Herrmann U (1992). Environmental factors in the pathophysiology of recurrent idiopathic calcium urolithiasis (RCU), with emphasis on nutrition. *Urol Res.* 20: 72-83.
- Scott R, Freland R & Mowat W (1977). The prevalence of calcified upper urinary tract stone disease in random population – Cumberland health survey. *Br J Urol* 49: 589-595.
- Serio A & Fraioli A (1999). Epidemiology of nephrolithiasis. *Nephron.* 81(suppl 1): 26-30.
- Shuster J, Finlayson B, Sheaffer R, Sierakowski R, Zoltek J & Dzegede S (1982). Water hardness and urinary stone disease. *J Urol.* 128: 422-425.
- Siener R, Glatz S, Nicolay C & Hesse A (2004). The role of overweight and obesity in calcium oxalate stone formation. *Obes Res.* 12: 106.
- Stamatelou KK, Francis ME, Jones CA, Nyberg LM & Curhan GC (2003). Time trends in reported prevalence of kidney stones in the United States: 1976-1994. *Kidney Int* 63: 1817.
- Stelluti M & Rana G (2004). Caratterizzazione climatologia della Basilicata.

ISSN 0304 – 0615, Istituto Sperimentale Agronomico, Bari, 55 pp.

- Taylor EN, Stampfer MJ & Churan GC (2005). Obesity, weight gain, and the risk of kidney stones. *JAMA* 293: 455.
- Trinchieri A, Ostini F, Nespoli R, Rovera F, Zanetti G & Pisani E (1998). Hyperoxaluria in patients with idiopathic calcium nephrolithiasis. *Journal of nephrology* 11: 70-72.
- Tucek M (1995). Progress Of Meritocratization Of Society In Czech And Slovak Republic. *Sociologia* 26 (4): 381.
- Vahlensieck EW, Bach D & Hesse A (1982). Incidence, prevalence and mortality of urolithiasis in the German Federal Republic. *Urol Res* 10: 161–164.
- Vitale C, Marangella M, Petrarulo M, Rovera L & Dutto F (1996). Effects of mineral composition of drinking water on risk for stone formation and bone metabolism in idiopathic calcium nephrolithiasis. In: Pak C.Y.C., Resnick M.I., Preminger G.M. (eds). *Urolithiasis 1996*. Miller, Dallas, pp: 173-174.
- WHO (2002). World Health Organization Guidelines fro Drinking Water Quality Hardness. http://www.who.int/water_sanitation_health/GDWQ/Chemicals/hardnfull.htm, July '02.
- Yoshida O & Okada Y (1990). Epidemiology Of Urolithiasis In Japan - A Chronological And Geographical-Study. *Urologia Internationalis* 45 (2): 104-111.

CAPITOLO 3

COMPOSIZIONE DEI CALCOLI RENALI DEI RESIDENTI IN BASILICATA

3.1 INTRODUZIONE

Lo scopo di una *stone analysis* non è solo quello di differenziare qualitativamente tutti i componenti dei calcoli renali, ma anche studiarne la struttura interna, al fine di fornire indicazioni utili sui meccanismi di nucleazione e successiva crescita dei calcoli [Daudon et al. 1993, 2004; Jaeger 1996].

Per raggiungere questo obiettivo è necessario scegliere la tecnica analitica giusta che risponda ai criteri di affidabilità, di efficacia, di precisione e che non sia eccessivamente costosa.

Da una analisi critica della letteratura scientifica in merito all'analisi dei calcoli, sono state raccolte informazioni sui metodi e tecniche più utilizzate per identificare i componenti presenti nei calcoli, cercando di evidenziarne i pregi ed i difetti.

Tabella 3.1 Confronto tra le tecniche analitiche più utilizzate. + : poco adatta; +++++: molto adatta
Comparison between the most utilized analytical techniques. +: Not so useful; very useful:+++++

Tecnica	Costi	Tempi	Quantità a campione	Accuratezza	Identificazione tipo di calcolo
Analisi Chimiche	+	++	++++	+	+
Diffrazione di raggi X	++	++	++	+++	++
Spettroscopia ad infrarosso	+++	+++	++++	++++	++
Analisi termiche	+++	++	+++	+++	++
Microscopia ottica	++++	++++	++++	++	+++
Microscopia elettronica a scansione	++	++	++++	++++	++++

Nel 1860 J.F. Heller propose un primo schema di analisi chimica per studiare i calcoli renali. Questo si basava sull'individuazione del colore, della durezza e della reazione chimica a reagenti posti direttamente sul materiale asciutto.

Attualmente, le metodologie analitiche per lo studio dei calcoli sono aumentate e, soprattutto, specializzate per identificare molto più correttamente i loro componenti maggiori e minori e la loro struttura interna.

Bisogna sempre distinguere, però, le tecniche utilizzate per scopi scientifici da quelle necessarie per la pratica clinica.

Ci sono molte tecniche utili per risalire alla composizione dei calcoli, comprese le analisi chimiche [Hodgkinson 1971; Westbury & Omenogor 1970], la spettroscopia infrarossa [Bellanato et al. 1973; Takasaki 1971], la diffrazione di raggi X su polveri [Gibson 1974; Lonsdale et al. 1968], la microscopia elettronica a scansione [Spector et al. 1978] e la spettrofotometria in assorbimento atomico [Atakan et al. 2007].

L'analisi dei calcoli al microscopio, ha subito una sostanziale modifica con l'avvento della microscopia elettronica, ma la sola osservazione dei calcoli al microscopio ottico presentava già alcuni vantaggi. Primo fra tutti, i costi ridotti e la velocità di analisi.

Osservare un calcolo al microscopio ottico è la prima e la più facile operazione che anche un medico nel suo studio può eseguire, soprattutto non è richiesta nessuna preparazione del campione ed è un'analisi non invasiva. L'identificazione delle varie componenti è però limitata. Se sono facilmente distinguibili le due forme di ossalato di calcio, è più difficile distinguere una bruscite da una struvite.

Questi svantaggi sono superabili con la microscopia elettronica a scansione, ma con un conseguente aumento dei costi e tempi di analisi.

Il maggiore costituente i calcoli renali è l'ossalato di calcio, la cui formula generale è $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot n \text{H}_2\text{O}$, dove per n sta il numero di molecole d'acqua legate che può variare da 1 a 2. Dal momento che i cristalli di ossalato possono accrescersi su cristalli inorganici o organici è possibile trovare molecole d'acqua all'interno della struttura del cristallo o nella materia organica nel suo intorno.

Una delle maggiori difficoltà nell'analisi dei calcoli renali risiede nel fatto che non tutte le tecniche sono in grado di dare informazioni strutturali di queste molecole d'acqua, impedendo la corretta identificazione delle due forme idrate dell'ossalato di calcio. Per esempio le analisi chimiche, la spettroscopia infrarossa e le analisi termo-gravimetriche non possono essere di aiuto nel distinguere le molecole d'acqua strutturali o interstiziali. Al contrario la tecnica di diffrazione di raggi X associata al metodo del raffinamento Rietveld, è in grado di definire la posizione delle molecole d'acqua e di conseguenza stabilire di quale tipo di ossalato si tratta, consentendo anche di stimarne la quantità presente [Orlando et al. 2008].

Con la diffrazione dei raggi X è possibile analizzare i calcoli, avendo il vantaggio di identificare i suoi componenti cristallini, ed ottenere una determinazione quantitativa, il tutto in tempi relativamente brevi. Lo svantaggio più grande riguarda i costi dell'analisi e la necessità di avere una certa esperienza con la tecnica, nonché la necessità di polverizzare parte o tutto il campione.

La spettroscopia a raggi X è una tecnica moderatamente costosa, ma è

diffusissima per la sua vasta gamma di impieghi. Come per l'XRD, con l'IR si può individuare un composto cristallino ma in più anche quelli non cristallini, in un tempo più ridotto e con una quantità di campione molto più piccola.

Un altro motivo di discriminazione tra le varie tecniche di analisi è il quantitativo di materiale necessario. Con la tecnica XRD (per polveri o a cristallo singolo) è possibile investigare piccoli frammenti del calcolo, recuperati nelle urine dopo un trattamento di litotrissia sul calcolo in esame, senza la necessità di asportarlo chirurgicamente, assumendo che il frammento sia rappresentativo dell'intero.

Dall'esperienza maturata, anche durante un periodo di stage presso il *Laboratory of Renal Lithiasis Research* dell'Università degli studi delle Isole Baleari - Spagna, e sulla base dei dati di letteratura, risulta che nella maggior parte dei casi l'analisi di un calcolo richiede l'uso di più tecniche analitiche.

L'uso di tecniche analitiche integrate permette di ottenere maggiori informazioni sulle proprietà di cristalli biologici e sulle interazioni tra cristalli e fase organica.

3.2 MATERIALI E METODI

Le ridotte dimensioni dei campioni hanno richiesto la messa a punto di un protocollo di analisi specifico per questo tipo di materiale, vista anche la necessità di utilizzare, soprattutto, tecniche non distruttive.

3.2.1 La raccolta dei calcoli renali

Dal dicembre 2006 al gennaio 2009, sono stati raccolti tutti i calcoli prodotti da 80 pazienti/donatori ricoverati presso l'Azienda Ospedaliera "San Carlo" di Potenza, grazie alla disponibilità dei medici operanti nel Dipartimento di Nefrologia e Litotrissia e del loro staff.

In particolare i calcoli raccolti derivano da 45 uomini e 35 donne. I calcoli sono stati tutti recuperati per espulsione spontanea o per via chirurgica.

Il 54% dei pazienti ha prodotto contemporaneamente più di un campione.

Ogni campione raccolto è stato prontamente conservato a secco in una provetta sterile ed etichettato con una sigla identificativa del paziente, corrispondente al questionario informativo che è stato fatto compilare (vedi capitolo 2).

I questionari sono stati trasferiti presso il Laboratorio di Geologia Medica e Ambientale dell'IMAA-CNR di Tito Scalo (Pz) ed i calcoli conservati in un essiccatore per almeno una settimana.

Ogni campione è stato fotografato e, ad esso, è stata assegnata una scheda identificativa.



Figura 3.1 Esempio di stoccaggio e raccolta fotografica dei Campioni
Example of storage and sample photo collection

Per ogni campione sono state determinate le dimensioni ed il peso.

In presenza di residui di materia organica (sangue o urina) i campioni sono stati pretrattati con acqua ossigenata (o etanolo in caso di residui più abbondanti), lavati con acqua distillata ed asciugati a 100°C per 12 ore.

 Consiglio Nazionale delle Ricerche Istituto di Metodologie per l'Analisi Ambientale	
- Laboratorio di Geologia Medica e Ambientale -	
Data analisi: _____	
CODICE CAMPIONE: _____	N.PROG. _____
Laboratorio di analisi: LGMA	Analizzatore: dott.ssa M.L. GIANNOSI
Provenienza: _____	
N. questionario: _____	Sexso: _____
Nome: _____	Cognome: _____
Residenza: _____	Anno: _____
STUDIO DEL CALCOLO	
N. di calcoli: _____	Dimensione: _____
Forma: _____	Deposito Superficiale: _____
Colore: _____	Punto di contatto alla papilla: _____
Aspetto esterno:	
Aspetto interno:	
Tipo di analisi eseguite:	
MICROSCOPIA OTTICA: _____	MICROSCOPIA A SCANSIONE: _____
SPET. INFRAROSSO: _____	DIFFRATTOMETRIA: _____
ANALISI CHIMICHE: _____	FOTO N.: _____
Note: _____	
COMPOSIZIONE CALCOLO: _____	- TIPO: _____
<small>IRMAA - CNR, Contrada Santa Lolla, Tito Scalo (Pz) - Tel: 0971.427.247 mail: giannossi@irmaa.cnr.it</small>	

Figura 3.2 Scheda d'analisi del campione
Sample analytical report

3.2.2 Le tecniche di caratterizzazione dei calcoli renali

LA MICROSCOPIA OTTICA

Tra i metodi di indagine mineralogica, la microscopia ottica rappresenta una metodologia di grandissima importanza per la versatilità, per l'ottimo rapporto costo benefici e per l'elevata qualità e quantità di informazioni ottenibili.

La microscopia ottica, senz'altro meno sofisticata e meno costosa degli altri metodi, offre una serie di informazioni mineralogiche molto interessanti quali (i) l'identificazione del minerale, (ii) l'analisi delle proprietà ottiche e (iii) l'organizzazione spaziale delle specie minerali nel campione.

Anche se con difficoltà sono state analizzate sezioni sottili di calcoli renali in microscopia ottica.

Per avere, invece, una visione del campione non trattato, intero o sezionato, è stato utilizzato lo "stereo-microscopio".

Il campione osservato allo stereo-microscopio è stato fotografato a diversi ingrandimenti (da 10x o 20x fino a 100x).

Durante questa fase di osservazione a grande scala è stata individuata una sezione preferenziale di taglio ed il calcolo è stato sezionato con un bisturi sterilizzato.

Durante le osservazioni, particolare attenzione è stata posta alle caratteristiche sia esterne (forma, colore, dimensione, cristalli visibili, presenza di punti di contatto papillari, concrezioni esterne, ecc) che interne.

L'osservazione della parte interna del calcolo ha fornito ulteriori indicazioni: identificazione dei cristalli, della loro struttura, della presenza di un nucleo e della sua posizione e composizione, eventuali trasformazioni dei cristalli in altri minerali.

LA DIFFRAZIONE DI RAGGI X

La tecnica analitica di diffrazione a raggi X (XRD) è la più utilizzata per l'analisi mineralogica poiché dai risultati diffrattometrici si possono ricavare anche informazioni aggiuntive quali, ad esempio, la struttura cristallina, il grado di "cristallinità" dei minerali e la carica di strato.

Storicamente è stata la prima tecnica ad essere utilizzata per l'identificazione dei minerali e per la corretta determinazione della loro struttura cristallografica, che in precedenza veniva dedotta dal modo in cui i cristalli si fessuravano, dalle loro proprietà ottiche e dall'aspetto esterno. La geometria interna del cristallo, invece, si basava puramente su ipotesi.

Gli spettri delle analisi diffrattometriche eseguite sui campioni di calcoli renali sono stati collezionati utilizzando il microdiffrattometro D/max RAPID

Rigaku. Questo si basa sul principio di Debye-Scherrer ed utilizza la tecnica della diffrazione a raggi X bidimensionale (XRD²) la quale permette di acquisire spettri di diffrazione in due dimensioni simultaneamente. Ciò vuol dire che permette di raccogliere, simultaneamente, una grande porzione, se non tutto l'anello di diffrazione. Da qui la possibilità di analizzare un materiale contenente un numero limitato di cristalliti [Colombi et al., 2003].

Il D/max è equipaggiato (figg. 3.3) con un tubo a raggi X con una potenza di 2 kW che produce una radiazione CuK_α che attraversa un monocromatore costituito da un cristallo di grafite. L'apparecchiatura è corredata da una serie di sei collimatori di diverso diametro (10, 30, 50, 100, 300, 800 μm) che permettono di scegliere l'ampiezza del fascio e quindi la grandezza dell'area da investigare. Sul collimatore è agganciato un *beam stopper* atto a prevenire il danneggiamento del detector da parte del fascio diretto.

I riflessi prodotti dal campione vengono registrati da un detector IP (*Imaging Plate*) cilindrico che è posto a 12,74 cm dal campione e può misurare un'immagine XRD² in un range di 2θ che copre 204° orizzontalmente e $\pm 45^\circ$ verticalmente dalla direzione del fascio diretto.

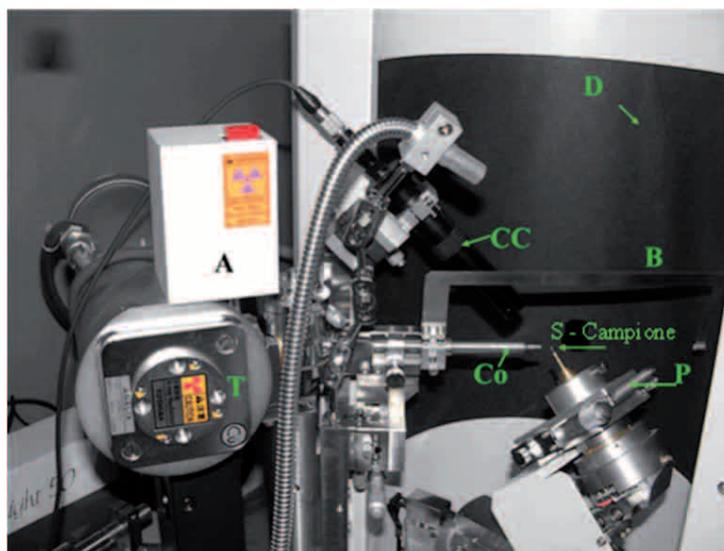


Figura 3.3 Microdiffrattometro D/max Rapid. T= tubo rx; A= monocromatore;
Co=collimatore; CC= CCD camera; S= campione; P= portacampione;
B= beam stopper; D= IP detector

*Microdiffractometer D7max rapid. T= X ray tube; A=monochromator; Co=collimator; CC=photocamera;
CCD=sample; P=sample holder; B= beam stopper; D= IP detector*

Il campione è situato su un supporto meccanico che può compiere due differenti rotazioni grazie ad un sistema a 2 assi: l'asse ω che coincide con l'asse centrale dell'IP e compie una rotazione da -15 a $+150^\circ$, l'asse Φ inclinato di 45° rispetto all'asse ω che può ruotare per 360° ; e corrisponde all'asse di rotazione del campione. L'inclinazione di 45° di quest'asse permette all'IP detector di rivelare tutti i raggi diffratti coprendo l'intero range di 2θ .

Lo strumento è provvisto anche di un sistema ottico costituito da una CCD camera (zoom fino a 200 x) e da una lampadina ad alta intensità, che unitamente alla CCD permette l'allineamento del campione e di verificare se l'area che verrà colpita dal fascio sia a fuoco. A tal proposito è importante ricordare che il portacampione è dotato di tre viti senza fine che permettono al campione piccoli spostamenti lungo la verticale dell'asse Φ (asse Z, $\pm 10\text{mm}$) e nel piano perpendicolare ad esso (assi X,Y, $\pm 5\text{ mm}$) per focalizzare la posizione d'interesse.

Per la gestione di tutto lo strumento, dall'impostazione dei parametri e delle analisi alla semplice visualizzazione dell'immagine della CCD camera, si utilizza un software Rigaku® compatibile col sistema Windows.

In particolare le impostazioni richieste per eseguire una ripresa diffrattometrica sono: nome dell'operatore, tipo e nome del campione, potenza del fascio (es. 40kV-30mA), tipo di collimatore, tempo di esposizione, rotazione dei due assi Φ ed ω . L'immagine acquisita può essere elaborata con l'ausilio dello stesso software che permette di poter visionare lo spettro e di convertire l'immagine in termini di 2θ per ottenere un classico diffrattogramma (fig. 3.4).

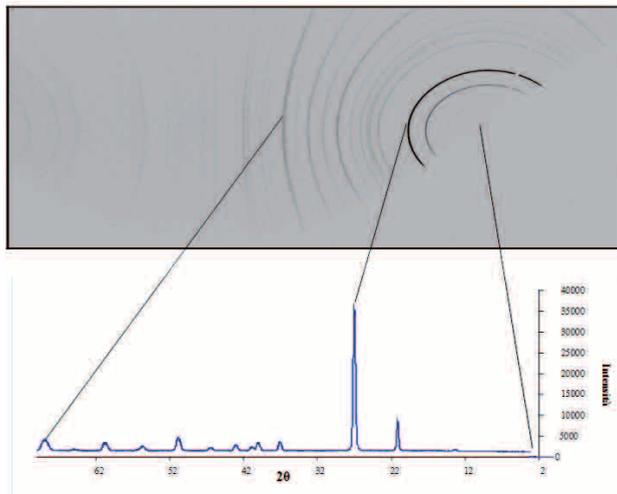


Figura 3.4 Esempio di conversione di uno spettro e nel relativo diffrattogramma

Example of spectrum conversion in diffractometer profile

I parametri utilizzati per la conversione sono:

- *offset width*: rappresenta l'ampiezza del dato da integrare. In altre parole è l'area dello spettro da cui si ricava il diffrattogramma;
- passo di campionamento (*step width*): 0.02° ;
- *noise*: rappresenta il valore del rumore di fondo che viene sottratto dai valori di intensità. Il software sottrae un valore via via crescente con l'aumentare dell'angolo 2θ , che varia secondo una funzione Lorenziana.
- L'associazione mineralogica del campione è stata determinata sulle polveri orientate casualmente con le seguenti condizioni operative:
 - Radiazione: Cu K_α ;
 - Monocromatore: cristallo di grafite;
 - Tensione: 40 kV;
 - Collimatore: 100 micron;
 - Corrente: 30 mA;
 - Rotazione (Φ) del portacampione intorno al suo asse: in media 180° ma ridotta anche a 60° per quantitativi molto bassi;
 - Velocità di rotazione del portacampione: 6 giri al minuto;
 - Rotazione (ω) del portacampione intorno al collimatore: fissa;
 - Portacampione: cilindrico avente sulla sommità una cavità del diametro di 6mm e profondità 1mm (fig. 3.5);
 - Durata della ripresa: 1 ora.



Figura 3.5 Portacampione per analisi di polveri al microdiffrattometro

Sample holder for powder microdiffraction analysis

L'interpretazione qualitativa dei profili diffrattometrici ricavati è avvenuta attraverso il confronto dei picchi di riflessione con quelli riportati nelle schede PDF (*Powder Diffraction File*) [ICDD 2005].

Per la determinazione dei parametri di cella è stato adoperato un programma *open-source* Unitcell [Holland & Redfern 1997], che consente di raffinare i parametri di cella di un minerale dai profili diffrattometrici e che si basa sul metodo non-lineare dei minimi quadrati.

Il programma, attraverso delle regressioni e altre iterazioni matematiche, consente di cancellare eventuali dati che sono deleteri per il raffinamento finale ma indica anche quali dati, non potendo essere cancellati perché importanti ai fini del risultato, devono solo essere opportunamente modificati. Queste correzioni vengono eseguite su ogni picco di riflessione presente nel diffrattogramma.

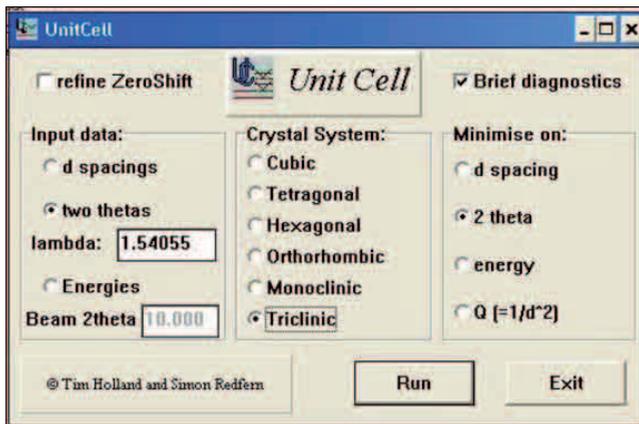


Figura 3.6 Schermata del programma UnitCell per il calcolo dei parametri di cella
Unit Cell software page for unit cell dimension calculation

Sono state scelte le riflessioni migliori per ogni fase presente in un diffrattogramma ed ad ognuna di queste è stato assegnato l'indice hkl con riferimento alle schede PDF [ICDD 2005] per generare il file di input del programma di calcolo.

Un numero elevato di riflessioni sono state scelte, lasciando al programma, nella fase di analisi di regressione lineare, l'identificazione di quali punti nel set di dati inseriti erano da eliminare e quali da raffinare perché altamente influenzanti il risultato finale.

Il grande vantaggio di questo semplice programma sta nel fatto di avere una serie di parametri diagnostici per valutare la bontà del raffinamento finale come l'Rstudent (che deve essere <2.0 al 95% di confidenza affinché il risultato abbia significatività statistica) che in base al valore assunto indicano su quale dei punti osservati si deve intervenire per migliorare la corrispondenza tra il dato calcolato e quello osservato.

L'ANALISI MICROSCOPICA DI SEZIONI SOTTILI

Lo studio delle sezioni sottili è tra le tecniche di indagine micro-morfologica più diffusa e di maggior successo in vari campi della ricerca. La loro osservazione attraverso l'applicazione di tecniche microscopiche e submicroscopiche consente l'identificazione di differenti costituenti del campione e ne determina le relazioni reciproche nello spazio (ed a volte nel tempo).

Alla luce di questa considerazione si evidenziano le potenzialità che derivano dall'applicazione di questa tecnica allo studio dei calcoli renali. Infatti, lo studio in sezione sottile dei costituenti minerali dei calcoli, pur con i limiti legati alle ridotte dimensioni dei campioni, evidenzia la distribuzione e/o l'orientazione delle diverse componenti fornendo utili informazioni riguardo ai processi di formazione.

La preparazione delle sezioni sottili è avvenuta presso il laboratorio privato Iannone (Bari).

Per la preparazione di sezioni sottili di biominerali occorre seguire una serie di fasi di lavorazione, ossia: rimozione dell'acqua, impregnazione con resine e lavorazione del blocco polimerizzato e lavorazione della sezione sottile.

Una serie numerosa di resine può essere utilizzata nella fase di inclusione come ad esempio l'acetato di cellulosa, il gesso, il silicato di sodio o la resina epossidica. La scelta del tipo di resina deve tenere conto della natura del materiale da includere, della tossicità e viscosità della resina, nonché della facilità di utilizzo con particolare riferimento alle condizioni di polimerizzazione alla luce delle disponibilità di tempo dell'operatore e di attrezzature adeguate del laboratorio. Per i campioni di calcoli è stata scelta l'araldite.

Il campione è stato inglobato in ambiente ad alto vuoto per saturare i vuoti presenti e per consolidare le parti instabili. La fase di polimerizzazione è stata condotta a temperatura ambiente.

Dopo l'indurimento il campione incluso in resina è stato sezionato mediante l'utilizzo di una troncatrice a disco diamantato.

La superficie del campione è stata levigata e, successivamente, incollata su un vetrino portaoggetti ed assottigliata, fino ad ottenere uno spessore di circa 40 μm .

La lucidatura delle superfici di taglio è stata realizzata con apposite macchine lappatrici fornite di piatti e paste abrasive diamantate di grana diversa (da 6 μm a 1 μm).

Per poter ricavare delle sezioni sottili di calcoli renali, sono stati scelti quelli di più grandi dimensioni che risultassero appartenenti a diversi gruppi, sulla base delle prime analisi.

LA MICROSCOPIA ELETTRONICA A SCANSIONE E MICROANALISI

Lo studio morfologico dei campioni è stato eseguito mediante tecniche di microscopia elettronica a scansione (*Scanning Electron Microscopy*, SEM).

Il microscopio elettronico a scansione utilizzato per l'analisi morfologica-tessiturale di dettaglio, è un Leica Stereoscan 440 Instrument della Cambridge Instruments disponibile presso il laboratorio di Geologia Medica e Ambientale dell'Istituto di Metodologie per l'Analisi Ambientale del CNR di Tito Scalo (Pz).



Figura 3.7 Microscopio elettronico a scansione
Scanning electron microscopy

Su frammenti o sezioni di calcoli renali sono state condotte diverse osservazioni.

I campioni sono stati selezionati per le dimensioni superficiali in modo da non superare la larghezza del supporto di osservazione (*stub*) con uno spessore massimo di 1cm. L'allontanamento di eventuale acqua presente nel campione è avvenuto mediante essiccamento all'aria.

Per incrementare la conducibilità elettrica dei campioni, per ridurre il riscaldamento e per aumentare l'emissione di elettroni secondari è stato necessario procedere alla ricopertura dei stessi con un conduttore come oro o grafite. Tale trattamento consente di mantenere la superficie del campione a potenziale elettrico costante, di evitarne l'eccessivo riscaldamento e di incrementare l'emissione di elettroni secondari.

Si è cercato di ottenere un film di ricopertura quanto più continuo possibile e di spessore tale (10-20 nm) da incrementare la conducibilità elettrica del campione, ma da non alterarne la morfologia superficiale.

Sebbene il microscopio elettronico sia stato utilizzato in questo studio

soprattutto per ottenere informazioni riguardanti la morfologia del campione esaminato, esso, com'è noto, è uno strumento ben più versatile: l'interazione tra il fascio di elettroni e il campione genera, infatti, tutta una gamma di segnali che possono essere utilizzati per ottenere dal campione informazioni sulla composizione.

Il sistema SEM-EDS (*Scanning electron microscopy & Energy-dispersive spectral analysis*) combina le informazioni morfologiche offerte dal microscopio elettronico a scansione con le informazioni qualitative e quantitative offerte dei raggi-X direttamente sulla sezione.

Lo spettrometro EDS richiede basse correnti di fascio, acquisisce velocemente gli spettri, ha pochi vincoli di installazione, ma non è molto sensibile; ha minor risoluzione, analizza peggiori raggi-X a bassa energia (elementi leggeri).

Ciascun elemento presenta uno spettro caratteristico, tuttavia data la scarsa risoluzione energetica (~150 eV contro i pochi nm di ampiezza reale), spesso picchi di elementi diversi possono sovrapporsi e risultare indistinti. L'intensità integrale dei picchi è legata alla concentrazione dell'elemento presente nel volume di interazione, ma bisogna tener conto di fattori di correzione (legati al numero atomico, al riassorbimento, alla fluorescenza secondaria).

Selezionando i fotoni corrispondenti alla radiazione caratteristica di un particolare elemento, e utilizzando tale segnale per modulare in luminosità il monitor di osservazione, è stato possibile ottenere delle mappe che mostrano la distribuzione spaziale dell'elemento nel campione.

Inoltre, è stato possibile ottenere informazioni composizionali anche dall'analisi delle immagini da elettroni retrodiffusi (*backscattered electron - BSE*).

Gli elettroni retrodiffusi contengono informazioni legate sia alla densità del campione (e quindi composizione chimica) che alla sua morfologia e provengono da profondità massime di alcuni μm . Il rendimento di produzione degli elettroni retrodiffusi presenta inoltre una notevole dipendenza dal numero atomico medio del campione; infatti, nei campioni a basso numero atomico è superiore la profondità di penetrazione dell'elettrone, così che la diffusione multipla ha luogo all'interno del campione ed il numero di elettroni retrodiffusi è piccolo, mentre in campioni ad alto numero atomico il libero cammino medio tra due urti successivi è piccolo ed aumenta quindi la possibilità di diffusione, singola e multipla, vicino alla superficie.

Nel caso di osservazioni con rivelatore per elettroni retrodiffusi è stata necessaria la produzione di film di copertura estremamente sottili (1-2 nm di spessore) è stato, pertanto, utilizzato oro al posto della grafite.

Sono state eseguite anche osservazioni su sezioni sottili lucide opportunamente

ricoperte con grafite con l'utilizzo del microscopio elettronico presente presso il Laboratorio Grandi Strumentazioni dell'Università degli Studi della Basilicata. E' stato però subito scoperto che un'analisi prolungata su sezioni sottili di calcoli contenenti ossalati portava ad una alterazione dell'area di studio. Pertanto la maggior parte delle osservazioni riguardo la struttura interna dei calcoli renali è avvenuta osservando le sezioni sottili al microscopio ottico a luce polarizzata.

3.3 RISULTATI

Tutti i campioni raccolti sono stati analizzati, ma per quei pazienti che hanno prodotto contemporaneamente più campioni di una stessa tipologia di calcolo, questi esemplari sono stati considerati come un unico campione e i risultati composizionali si riferiscono ad uno solo di questi preso come il più rappresentativo (di solito quello ben conservato e di maggiori dimensioni). Non sono stati riscontrati casi di contemporanea espulsione di calcoli di tipologia differente.

Considerato ciò, un numero maggiore di calcoli sono stati analizzati (circa 100) ma ad ogni paziente è assegnato un solo calcolo rappresentativo per un totale di 80 calcoli renali.

3.3.1 *Composizione dei calcoli renali*

L'ANALISI MINERALOGICA

Con appropriate combinazioni di osservazioni macroscopiche e microscopiche con specifiche tecniche analitiche, ogni calcolo renale raccolto è stato analizzato al fine di individuare i suoi componenti mineralogici e chimici.

I risultati dell'analisi dei campioni mostrano che i componenti mineralogici dei calcoli renali raccolti possono essere divisi in 4 grandi categorie:

- ossalati di calcio;
- fosfati di calcio;
- acido urico;
- cistina.

L'identificazione delle diverse fasi mineralogiche è avvenuta innanzitutto sulla base delle riprese diffrattometriche abbinate, poi, alle caratteristiche macroscopiche e microscopiche. In qualche caso la conferma è avvenuta con la microanalisi al SEM.

Dopo una prima osservazione allo stereo-microscopio, ogni campione è stato polverizzato per l'esecuzione dell'analisi diffrattometrica, per intero (quanto lo si riteneva necessario) o solo in parte, facendo in modo che il frammento estratto potesse rappresentare sia un eventuale nucleo che la parte periferica del calcolo.

Le fasi investigate corrispondono a minerali quali whewellite (5.93\AA), weddellite (6.18\AA), acido urico (3.09\AA), struvite (4.26\AA), idrossapatite (2.81\AA) e cistina (4.71\AA).

L'identificazione delle due forme di ossalato di calcio (whewellite e weddellite) è agevolata dallo spettro dei picchi diffrattometrici delle due fasi che mostrano picchi ben sviluppati. La contemporanea presenza di entrambe le forme non crea problemi nell'interpretazione qualitativa del diffrattogramma in quanto i picchi di riflessione caratteristici principali delle due forme di ossalato sono ben distinguibili su un diffrattogramma ottenuto da una buona ripresa (fig. 3.8).

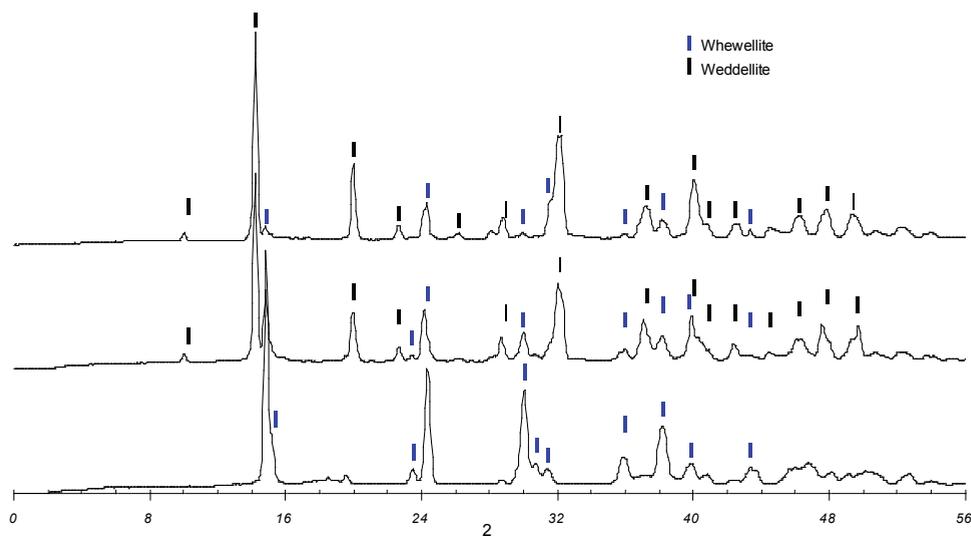


Figura 3.8 Diffrattogrammi a confronto contenenti, dal basso verso l'alto, solo whewellite, weddellite e whewellite, weddellite ed una più piccola percentuale di whewellite

Comparison between diffraction profiles of whewellite, weddellite plus whewellite, weddellite plus a little amount of whewellite, from the bottom the top

Confrontando i profili diffrattometrici contenenti whewellite, non si osservano differenze pur considerando che in alcuni campioni la whewellite si presenta come piccoli cristalli isolati, negli altri deriva dalla trasformazione della weddellite (fig. 3.9).

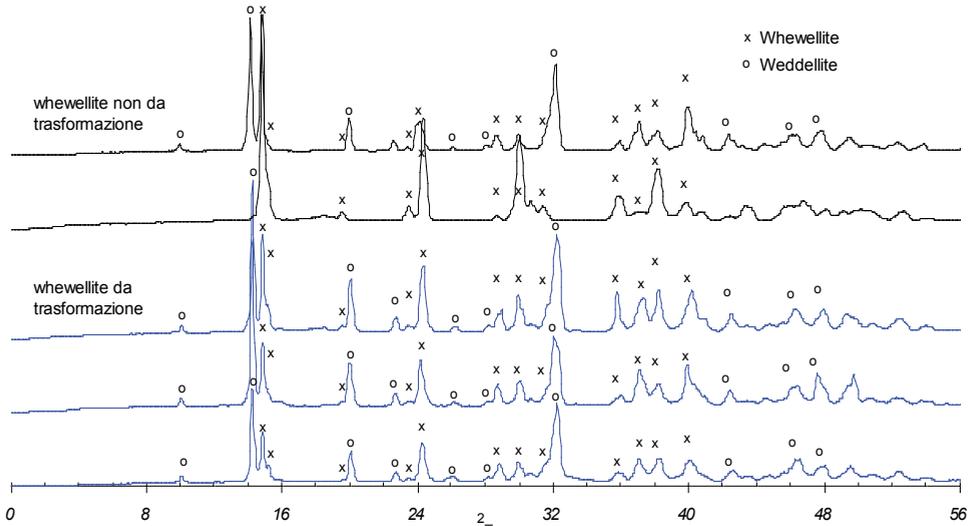


Figura 3.9 Confronto tra whewellite da trasformazione e non sui profili diffrattometrici
Comparison between diffraction profiles of whewellite with and without transformation

Le restanti fasi mineralogiche sono state individuate in altri profili diffrattometrici come fasi singole (fig. 3.10) o in associazione (figg. 3.11, 3.12).

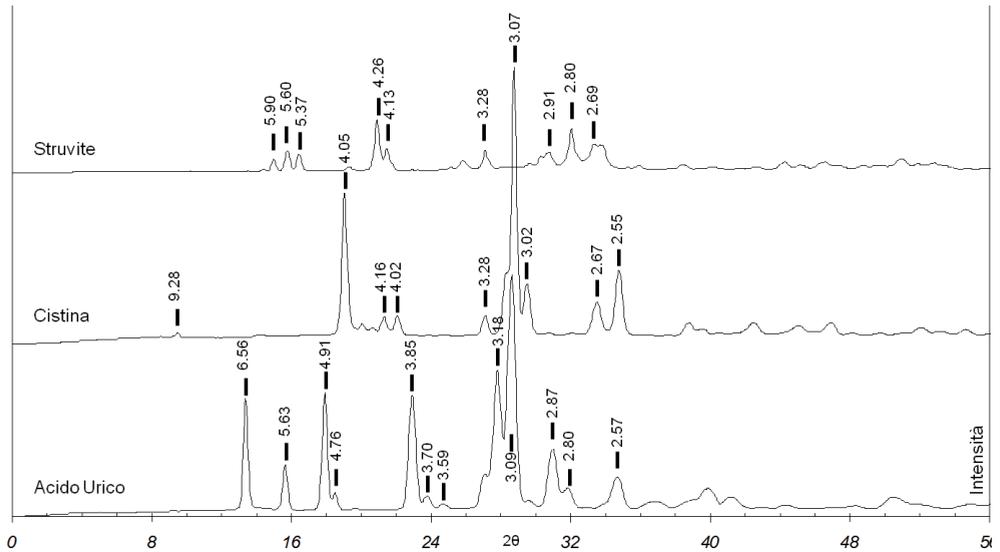


Figura 3.10 Diffattogrammi dell'acido urico, della cistina e della struvite
Diffraction profiles of uric acid, cystina and struvite

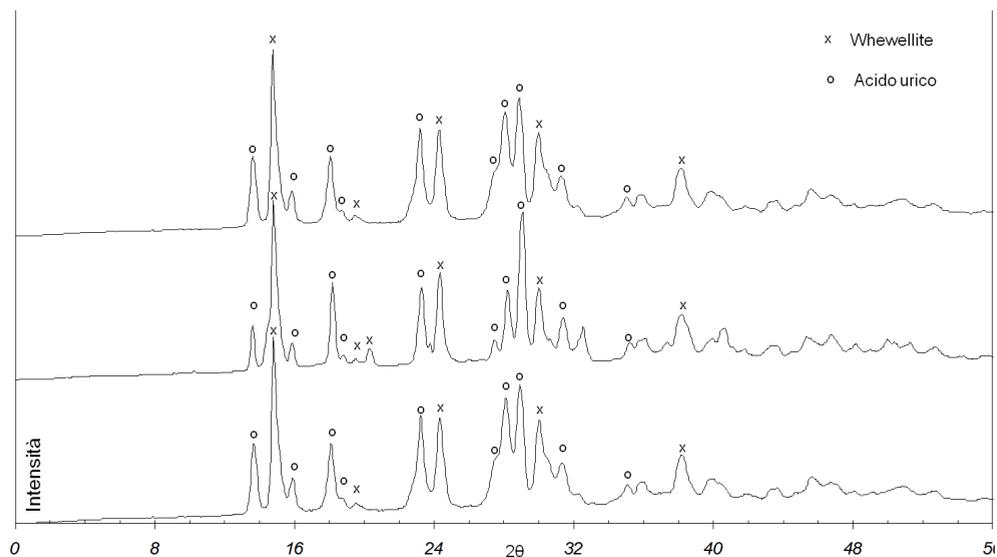


Figura 3.11 Diffrattogrammi di calcoli misti composti da acido urico e whewellite
Diffraction profiles of mixed kidney stones made of uric acid plus whewellite

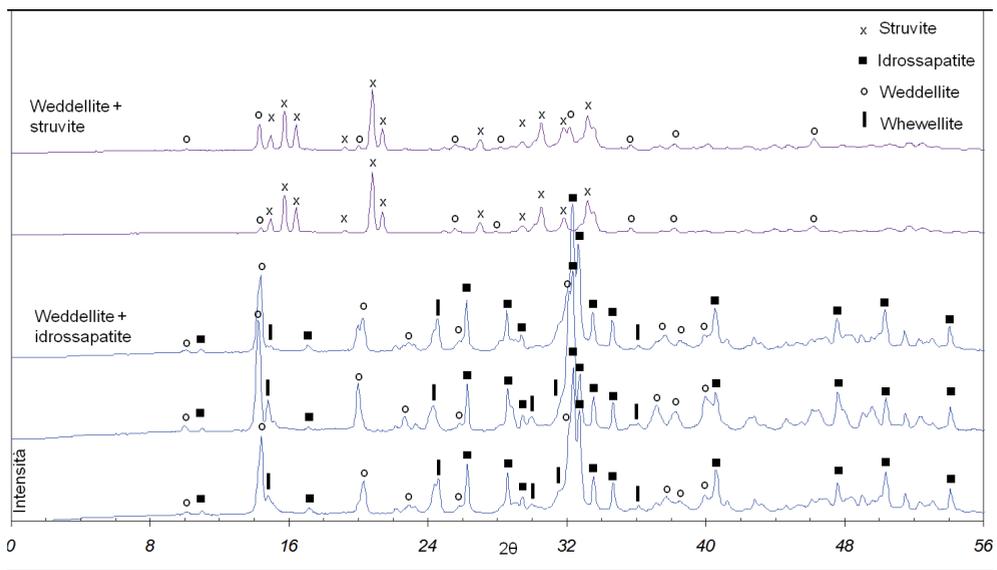


Figura 3.12 Diffrattogrammi di calcoli misti composti da weddellite e idrossapatite o struvite
Diffraction profiles of mixed kidney stones made of weddellite plus hydroxyapatite

A seguito della corretta identificazione delle diverse fasi mineralogiche osserviamo che il 65% dei campioni sono costituiti maggiormente da ossalato di calcio (38% dalla fase mono-idrata - whewellite; 27% dalla fase bi-idrata - weddellite). Ad eccezione di qualche campione contenente la fase pura, la maggior parte dell'ossalato di calcio si accompagna a quantità inferiori di altre fasi organiche ed inorganiche.

Il restante 35% dei calcoli renali analizzati è costituito da altre fasi quali l'acido urico (15%), idrossapatite (15%), struvite (6%) e cistina (1%) che si presentano come fasi singole. Il 32% dei campioni sono calcoli misti, costituiti cioè da una quantità comparabile di due fasi mineralogiche (es. weddellite e idrossapatite oppure whewellite ed acido urico).

La distribuzione delle fasi mineralogiche presenti nei calcoli analizzati è riportata in tabella 3.2 con l'indicazione dell'abbondanza relativa dei componenti.

La percentuale dei componenti mineralogici maggiori e minori di ogni campione analizzato è stata ricavata in modo relativo dal rapporto tra le aree del picco di riflessione a 10 osservato con quello corrispondente della fase pura (schede illustrative in appendice).

L'area del picco basale a 10 delle diverse fasi mineralogiche è stato misurato decomponendo il profilo diffrattometrico con l'ausilio del programma WINFIT [Krumm 1997] e utilizzando la funzione asimmetrica Pearson VII.

Le fasi presenti mostrano dei picchi molto ben definiti, ciò ha permesso una buona deconvoluzione dei profili diffrattometrici.

Pur considerando la possibilità di registrare degli errori percentuali nell'analisi quantitativa assoluta, una valutazione quantitativa relativa di riferimento è comunque utile al medico per calibrare una giusta terapia farmacologia e/o dietetica.

Dai risultati della diffrazione di raggi X, è stato possibile calcolare i parametri della cella elementare delle fasi mineralogiche principali a partire dalle riflessioni osservate ed indicizzate sui diffrattogrammi e con l'ausilio del programma di calcolo Unit Cell di Tom Holland & Simon Redfern [1997].

Sono state messi a confronto i parametri di cella calcolati con quelli teorici delle fasi mineralogiche riscontrate (tab. 3.3).

Tabella 3.2 Valori medi dei parametri di cella delle fasi mineralogiche riscontrate
Average values of unit cell dimension of observed mineralogical phases

FASE	SISTEMA	GRUPPO	a (Å)	b (Å)	c (Å)	α (°)	β (°)	γ (°)	Volume cella (Å ³)	
Cistina	esagonale	P6 1 2 2	9.4	9.4	9.4	90.0	90.0	120.0	720.8	
(n.1)			valore medio	9.3	9.3	9.4	90.0	90.0	120.0	707.1
			deviazione standard							17.0
Whewellite	monoclinico	P2 1/c	6.3	14.6	10.1	90.0	109.5	90.0	874.9	
(n.42)			valore medio	6.3	14.6	10.0	90.0	109.8	90.0	870.7
			deviazione standard	0.1	0.1	0.2	0.0	1.1	0.0	17.0
Weddellite	tetragonale	14/m	12.4	12.4	7.4	90.0	90.0	90.0	1110.5	
(n.33)			valore medio	12.4	12.4	7.4	90.0	90.0	90.0	1138.9
			deviazione standard	0.1	0.1	0.1	0.0	0.0	0.0	22.4
Idrossapatite	esagonale	P6 3/m	9.4	9.4	6.9	90.0	90.0	120.0	528.8	
(n.7)			valore medio	9.4	9.4	6.9	90.0	90.0	120.0	522.1
			deviazione standard	0.1	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	4.8
Struvite	ortorombico	P mn 2 1	7.0	11.2	6.1	90.0	90.0	90.0	479.9	
(n.3)			valore medio	6.9	11.2	6.1	90.0	90.0	90.0	475.6
			deviazione standard	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	8.2
Acido Urico	monoclinico	P2 1/n	13.1	7.4	6.2	90.0	90.5	90.0	602.9	
(n.19)			valore medio	13.2	7.3	6.2	90.0	89.2	90.0	591.8
			deviazione standard	0.1	0.1	0.1	0.0	1.6	0.0	16.7

Dal confronto tra il valore medio calcolato e quello di riferimento, mediante l'applicazione dello Student t-test, è emerso che le differenze tra i valori, dove presenti, sono significative ad un livello pari al 95%.

Sono stati analizzati i parametri di cella di una singola fase distinguendo se questa è presente come componente unico o associato ad altri minerali.

La whewellite è un esempio; si presenta come componente puro o associato alla weddellite o all'acido urico (tab. 3.4).

I parametri di cella della stessa fase presente isolata o in associazione con altri minerali, presentano differenze minime non significative.

Tabella 3.3 Valori medi dei parametri di cella della whewellite
Average values of whewellite unit cell dimension

FASE	SISTEMA	GRUPPO	a (Å)	b (Å)	c (Å)	α (°)	β (°)	γ (°)	Volume cella (Å ³)	
Whewellite	monoclinico	P2 1/c	6.3	14.6	10.1	90.0	109.5	90.0	874.9	
			valore medio	6.3	14.6	10.0	90.0	110.0	90.0	870.6
pura (n.24)			deviazione standard	0.2	0.1	0.2	0.0	1.3	0.0	20.2
			valore medio	6.3	14.6	10.1	90.0	109.5	90.0	872.5
con weddellite (n.13)			deviazione standard	0.0	0.1	0.1	0.0	0.2	0.0	8.8
			valore medio	6.3	14.6	10.0	90.0	109.9	90.0	866.1
con acido urico (n.5)			deviazione standard	0.1	0.1	0.2	0.0	1.3	0.0	18.4

Lo stesso si osserva per la weddellite.

Se confrontiamo i parametri di cella della fase pura o in associazione con la whewellite o l'idrossapatite (tab. 3.5) o dell'acido urico puro o con whewellite (tab. 3.6), non osserviamo differenze significative.

Tabella 3.5 Valori medi dei parametri di cella della weddellite

Average values of weddellite unit cell dimension

FASE	SISTEMA	GRUPPO	a (Å)	b (Å)	c (Å)	α (°)	β (°)	γ (°)	Volume cella (Å ³)
Weddellite	tetragonale	14/m	12.4	12.4	7.4	90.0	90.0	90.0	1110.5
	valore medio		12.4	12.4	7.4	90.0	90.0	90.0	1127.7
deviazione standard		0.1	0.1	0.1	0.0	0.0	0.0	21.8	
pura (n.13)	valore medio		12.4	12.4	7.5	90.0	90.0	90.0	1156.7
	deviazione standard		0.1	0.1	0.1	0.0	0.0	0.0	16.8
con whewellite (n.13)	valore medio		12.4	12.4	7.4	90.0	90.0	90.0	1126.9
	deviazione standard		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.4

Tabella 3.6 Valori medi dei parametri di cella dell'acido urico

Average values of uric acid unit cell dimension

FASE	SISTEMA	GRUPPO	a (Å)	b (Å)	c (Å)	α (°)	β (°)	γ (°)	Volume cella (Å ³)
Acido Urico	monodino	P2 1/n	13.1	7.4	6.2	90.0	90.5	90.0	602.9
	valore medio		13.2	7.3	6.2	90.0	89.5	90.0	592.8
deviazione standard		0.1	0.1	0.2	0.0	1.3	0.0	17.4	
puro (n.14)	valore medio		13.2	7.3	6.1	90.0	88.5	90.0	589.0
	deviazione standard		0.2	0.1	0.1	0.0	2.1	0.0	16.3

L'ANALISI PETRO-MORFO TESSITURALE

La sola composizione mineralogica ottenuta mediante l'analisi diffrattometrica, non risulta sufficiente per classificare adeguatamente un calcolo. A tal fine una serie di osservazioni macroscopiche e microscopiche sono state eseguite per ricavare informazioni petro-morfo tessiturali.

La possibilità di osservare alcuni calcoli renali in sezione sottile con un microscopio ottico ha consentito, inoltre, di evidenziare le proprietà ottiche delle diverse fasi mineralogiche presenti, nonché la loro posizione reciproca che determina la struttura interna del campione.

L'analisi tessiturale è il procedimento di studio che permette di ricostruire la sequenza di cristallizzazione delle varie specie minerali presenti in un campione, nella fattispecie il calcolo.

Tranne qualche raro caso di cristalli isolati (monocristalli di weddellite) anche di notevoli dimensioni, normalmente i cristalli che compongono i calcoli renali sono riuniti tra loro a costituire aggregati e associazioni.

Attraverso l'analisi in microscopia ottica ed elettronica a scansione dei campioni tal quale e delle sezioni sottili dei campioni di calcoli renali raccolti

è stato possibile individuare una serie di associazioni sia regolari che irregolari.

Nella maggior parte dei calcoli le associazioni che si ritrovano più frequentemente sono quelle irregolari o sub regolari che prendono il nome di aggregati. Questi sono costituiti da cristalli della stessa specie mineralogica, disposti secondo modalità che rispecchiano il fatto di essere cresciuti a partire da numerosi nuclei più o meno diversamente orientati.

In questi aggregati non sono presenti delle relazioni tra cristalli esprimibili con delle leggi geometriche, tanto che si preferisce illustrarli con termini descrittivi.

Molto comuni sono gli aggregati per forme tonde e raggiate apprezzabili già dall'aspetto esteriore. Questo tipo di aggregati sono stati riscontrati per calcoli composti da whewellite e qualche caso di calcolo di acido urico o un misto tra i due tipi (fig.3.13).



Figura 3.13 Morfologia esterna di calcoli di whewellite. Struttura globulare a grappolo (#56, 25)
External morphology of whewellite kidney stones. Grape globular texture

La whewellite (ossalato di calcio mono-idrato, $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), rientra nella classe IX-A dei composti organici della classificazione di Strunz e classe 50.1.1

della classificazione Dana. I cristalli di whewellite si presentano di colore variabile dall'arancio scuro al marrone scuro, riconoscibili allo stereo-microscopio (fig. 3.14).

In sezione sottile si presentano trasparenti, in osservazione in luce polarizzata parallela, e debolmente colorati dal giallo al marroncino (figg. 3.15, 3.16a); non si osserva pleocroismo e presentano un rilievo basso.

La determinazione della forma di questi minerali in sezione sottile, come per tutti gli altri, è complessa perché trattasi di una osservazione bidimensionale strettamente legata al taglio ed all'orientazione del minerale nella sezione. In alcuni campioni la whewellite appare con una forma prismatica come cristalli isolati di varie dimensioni e variamente orientati (fig. 3.15). In altri campioni i cristalli si accrescono in forma colonnare compatta (figg. 3.16a, b).



Figura 3.14 Calcolo di whewellite allo stereo-microscopio (#54)

Whewellite kidney stone at the stereo-microscopy

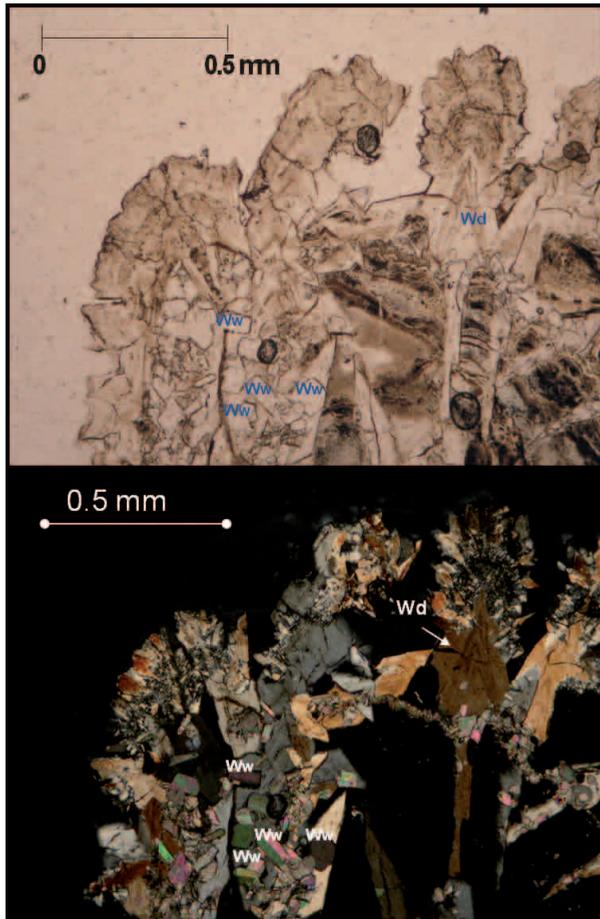


Figura 3.15 Cristalli prismatici di whewellite (Ww) e weddellite (Wd) in sezione sottile
Whewellite prismatic crystals and weddellite crystals in petrographic thin section

In luce polarizzata incrociata, la whewellite si presenta con alti colori d'interferenza (figg. 3.16b, c).

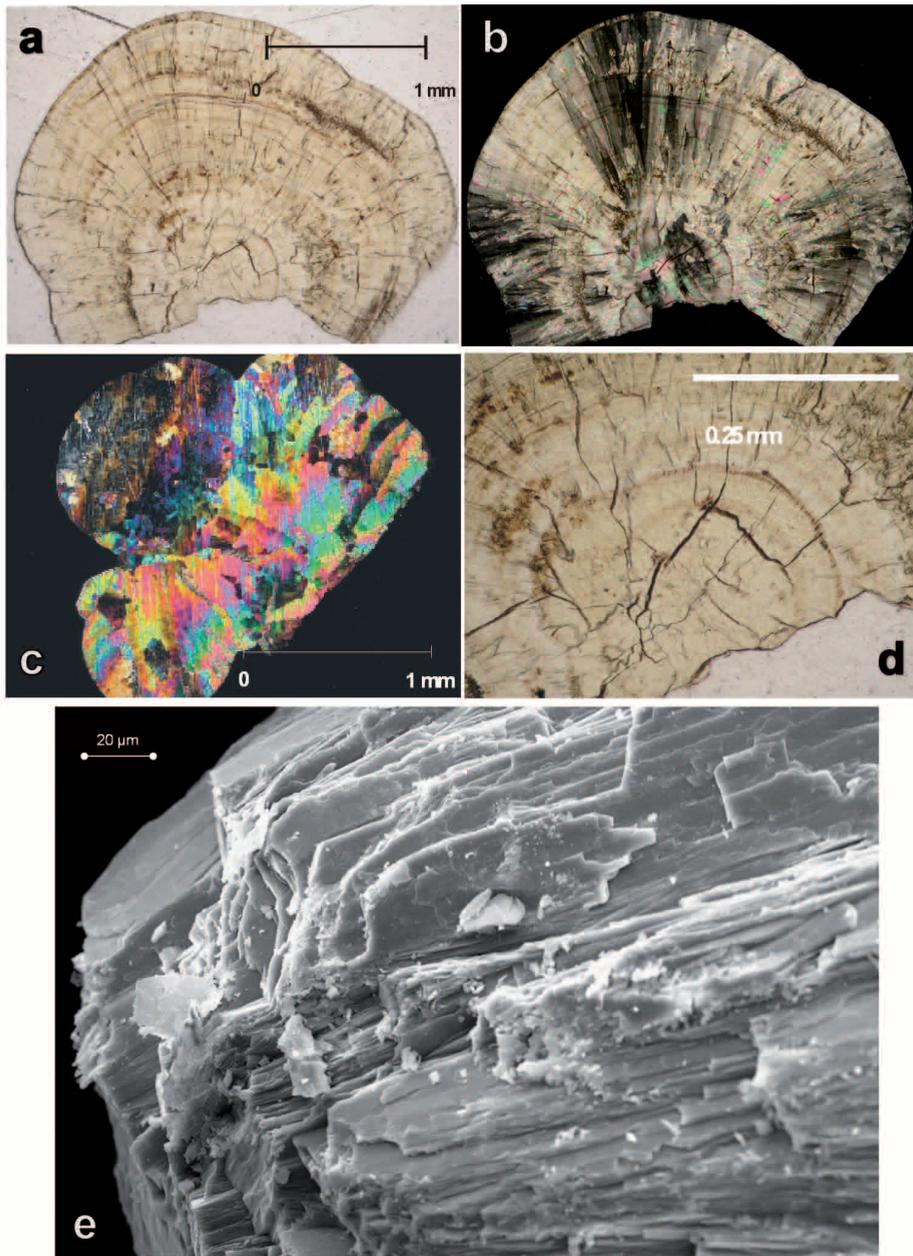


Figura 3.16 Cristalli colonnari di whewellite: a) in luce polarizzata parallela; b-c) in luce polarizzata incrociata; d) dettaglio di frattura osservata a luce polarizzata incrociata; e) whewellite colonnare al SEM

Columnar whewellite crystals: a) polarized light; b-c) polarized light, nicols X; d) polarized light observation of a fracture; e) columnar whewellite crystals at SEM

Nei calcoli composti da whewellite, i cristalli colonnari si sviluppano perfettamente orientati a formare una struttura ritmica. I micro ritmi di crescita sono distinguibili visivamente grazie alle variazioni cromatiche e corrispondono a successive aggiunte di strati di accrescimento a partire da un sottile film di nuova soluzione urinaria, su quella che risulta essere in quel momento la superficie esterna.

In sezione sottile, con una osservazione a luce polarizzata a nicols incrociati, si possono apprezzare le singole colonne di cristalli che non si estinguono contemporaneamente (fig. 3.17).

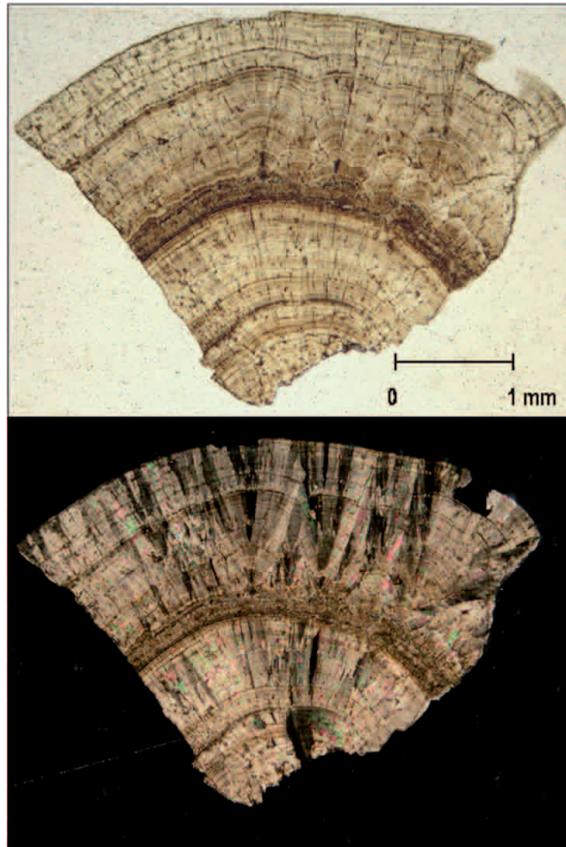


Figura 3.17 Struttura di crescita di cristalli colonnari di whewellite (#69)
Texture of columnar whewellite crystals growth

L'identificazione della whewellite è risultata alcune volte difficile dal momento che può essere confusa con i cristalli di acido urico che possono presentarsi con un aspetto ed un colore molto simile (fig. 3.18).

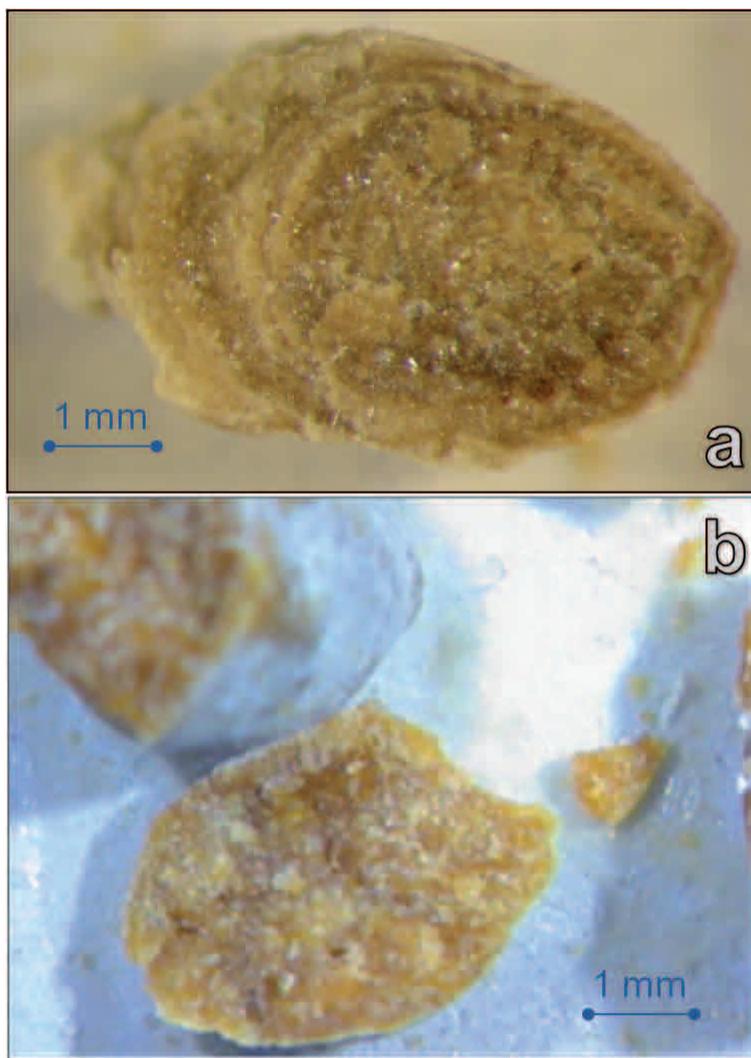


Figura 3.18 Confronto allo stereo-microscopio di cristalli di whewellite (a) e di acido urico (b)
Comparison between whewellite crystals (a) and uric acid crystal (b) at stereo-microscopy observation

L'acido urico ($C_5H_4N_4O_3$) è un composto organico di carbonio, azoto, ossigeno ed idrogeno. I cristalli di acido urico rientrano nella classe IX-A dei composti organici della classificazione di Strunz e classe 50.4.4.1 della classificazione Dana.

L'acido urico cristallizza nel sistema monoclinico prismatico.

I classici cristalli di acido urico si presentano come sottili lamelle di forma rombica con i vertici più o meno erosi. Oppure possono presentarsi come lamelle esagonali aggregate (fig. 3.19).

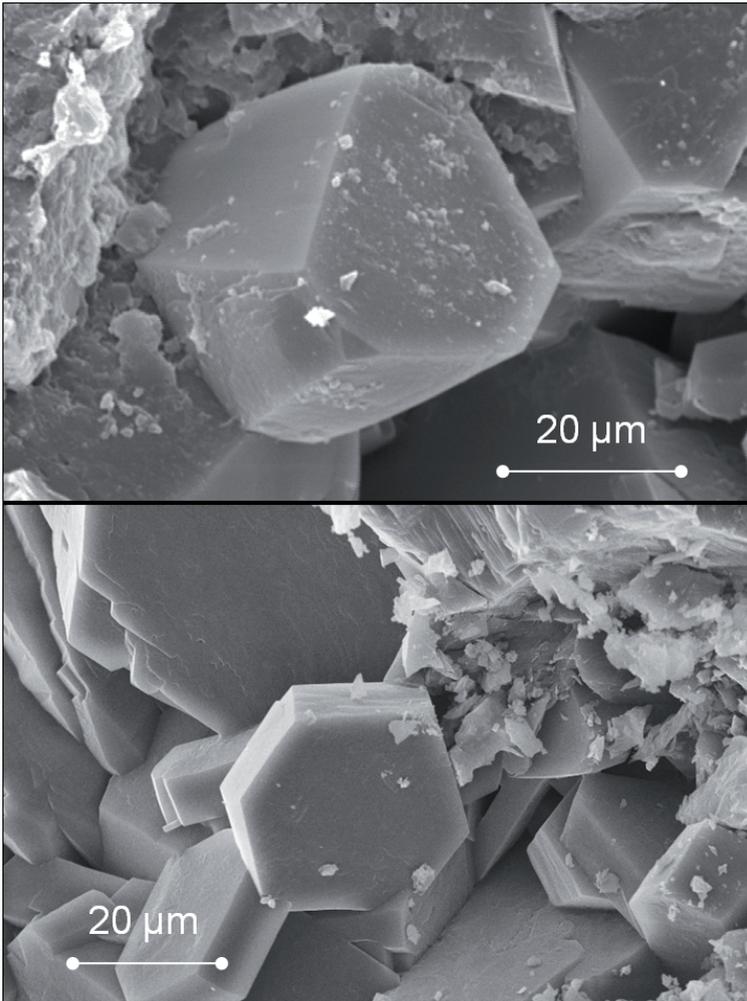


Figura 3.19 Cristalli di acido urico al SEM
Uric acid crystals at SEM

I calcoli di acido urico non presentano caratteri molto importanti osservati in sezione sottile al microscopio ottico (fig. 3.20).

Tra le diverse fasi mineralogiche presenti, ritroviamo raramente la cistina.

I calcoli di cistina ($C_6H_{12}N_2O_4S_2$) sono facilmente riconoscibili anche ad occhio nudo per il loro aspetto tondeggiante ed il colore giallo cerato. I cristalli sono riconoscibili al SEM ed in sezione sottile per la loro forma esagonale (fig. 3.21).

Per questa tipologia di campioni si può osservare una struttura interna compatta e priva di porosità.

La forma bi-idrata dell'ossalato di calcio ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), il cui nome mineralogico è weddellite, cristallizza, invece, del sistema tetragonale di-piramidale ed è descritta con il gruppo spaziale I4/m.

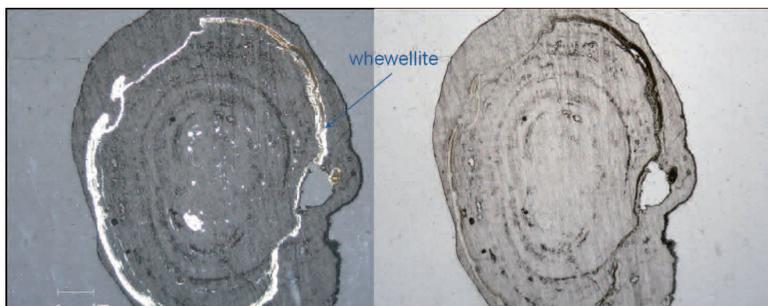


Figura 3.20 Calcolo di acido urico in sezione sottile con uno strato di whevellite
Acid uric kidney stone plus a whevellite layer in petrographic thin section

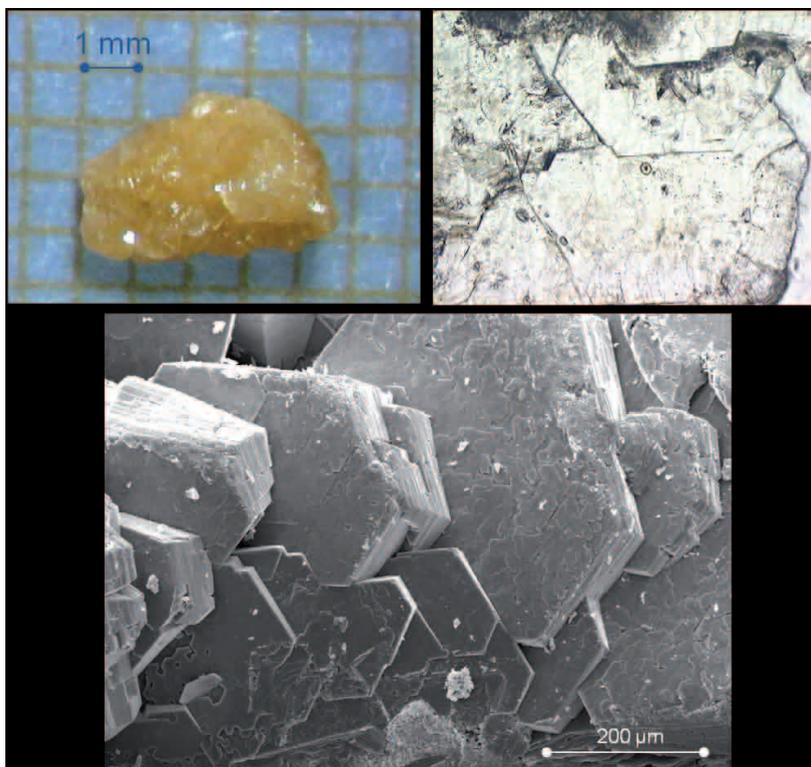


Figura 3.21 Calcolo di cistina allo stere-microscopio, in sezione sottile ed al SEM (#15)
Cystine kidney stone at stereo microscopy, at SEM and in thin section



Figura 3.22 Calcolo di weddellite allo stereo-microscopio (#28)

Weddellite kidney stone at stereo-microscopy

I cristalli di weddellite, si presentano in forma bi-piramidale, da poco a molto ben sviluppati che, non potendo accrescersi parallelamente, si accavallano. Il colore di questi cristalli varia nelle tonalità del giallo al bianco (fig. 3.22).

Alcune volte un intero calcolo è formato da un solo cristallo di weddellite. Dalla sua morfologia si comprende perché talvolta viene chiamato a “punta di lancia” (fig. 3.23).

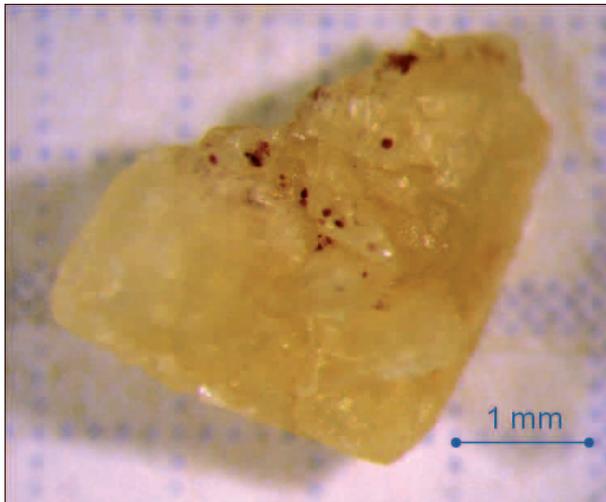


Figura 3.23 Monocristallo di weddellite detto “a punta di lancia” (#31) allo stereo-microscopio

Weddellite single crystal labelled “spearhead” at stereo-microscopy

Anche in sezione sottile la weddellite è ben riconoscibile per la sua forma bi-piramidale che in sezione appare rombica. I cristalli di weddellite si presentano trasparenti, in osservazione in luce polarizzata parallela, e debolmente colorati dal giallo al marroncino (figg. 3.24a, c). Non si osserva pleocroismo e presenta un rilievo basso.

I cristalli di weddellite hanno bassi colori d'interferenza (figg. 3.24b, d) e sembrano avere una zonatura (fig. 3.15).

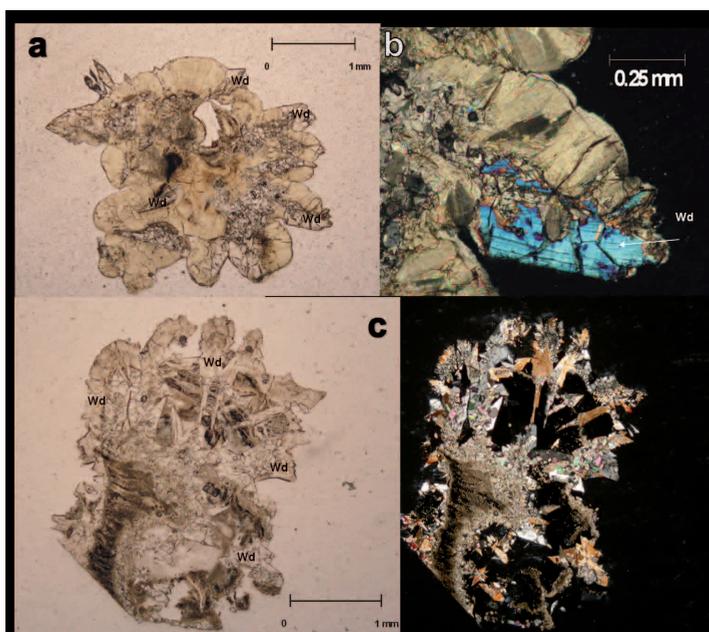


Figura 3.24 Cristalli di weddellite (Wd) in sezione sottile: a-c) in luce polarizzata parallela; b-d) in luce polarizzata incrociata

Weddellite crystals in thin section: a-c) polarized light; b-d) polarized light, nicols X

Su alcuni cristalli di weddellite di dimensioni maggiori, sono preservati e ben visibili piccoli cristalli che testimoniano diversi cicli di crescita (fig. 3.25).

La whewellite e la weddellite hanno una struttura simile, che spiega il perché della loro frequente associazione. Come detto in precedenza, la weddellite è la fase termodinamicamente instabile e cineticamente favorevole dell'ossalato di calcio; la whewellite è la fase termodinamicamente stabile [Nakai et al. 1996; Skrtic et al. 1987]. Quindi molto spesso si osserva la sostituzione per trasformazione della weddellite in whewellite.

Allo stereo-microscopio questa sostituzione è già visibile (fig. 3.26) in forma più o meno spinta.

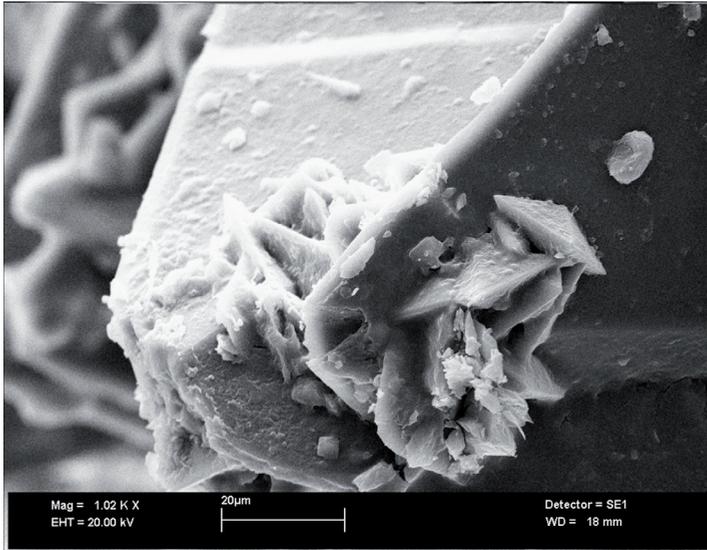


Figura 3.25 Accrescimento di microcristalli di weddellite
Weddellite microcrystals growth on a bigger weddellite crystal

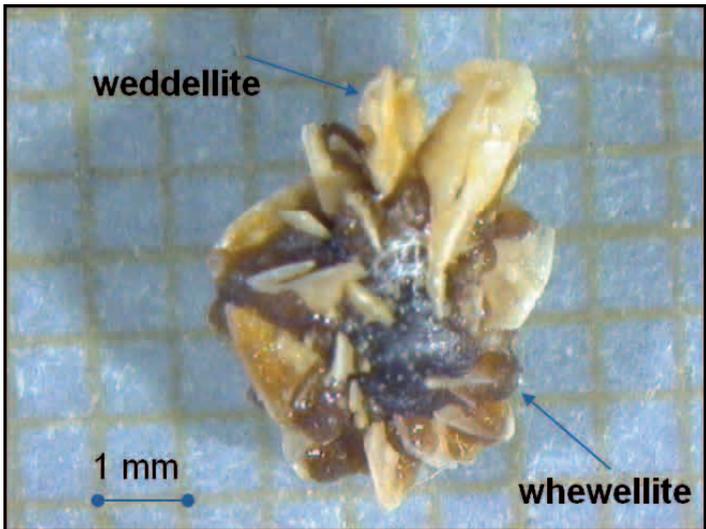


Figura 3.26 Trasformazione di weddellite in whewellite, foto allo stereo-microscopio (#72)
Weddellite transformation in whewellite, photo at stereo-microscopy

Molto interessante è l'osservazione in sezione sottile di questa trasformazione. Si riconoscono bene le forme relitte dei cristalli di weddellite con taglio a rombo riempite da microcristalli di whewellite (fig. 3.27).

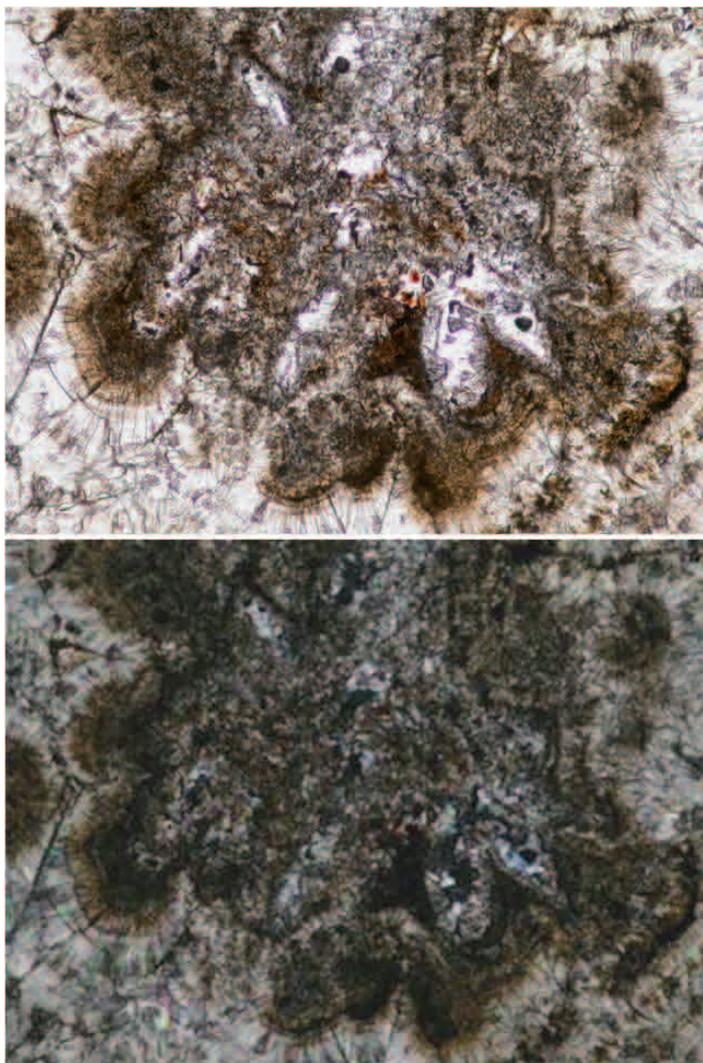


Figura 3.27 Trasformazione di weddellite in whewellite, foto al microscopio ottico
Weddellite transformation in whewellite, photo at optical microscopy

Con l'osservazione dei campioni al SEM si apprezza come la trasformazione parte dal centro del cristallo di weddellite procedendo verso l'esterno (fig. 3.28). La superficie del cristallo di weddellite è raramente sostituita e viene conservata, probabilmente grazie al continuo contatto con la soluzione urinaria che la mantiene stabile [Gibson 1974].

Proprio perché non molto stabile, la weddellite tende anche a disciogliersi.

Nella figura 3.28 si osserva una chiara impronta di un cristallo di weddellite oramai scomparso, ma essendo circondato da idrossapatite ne ha “registrato” la forma (fig. 3.29).

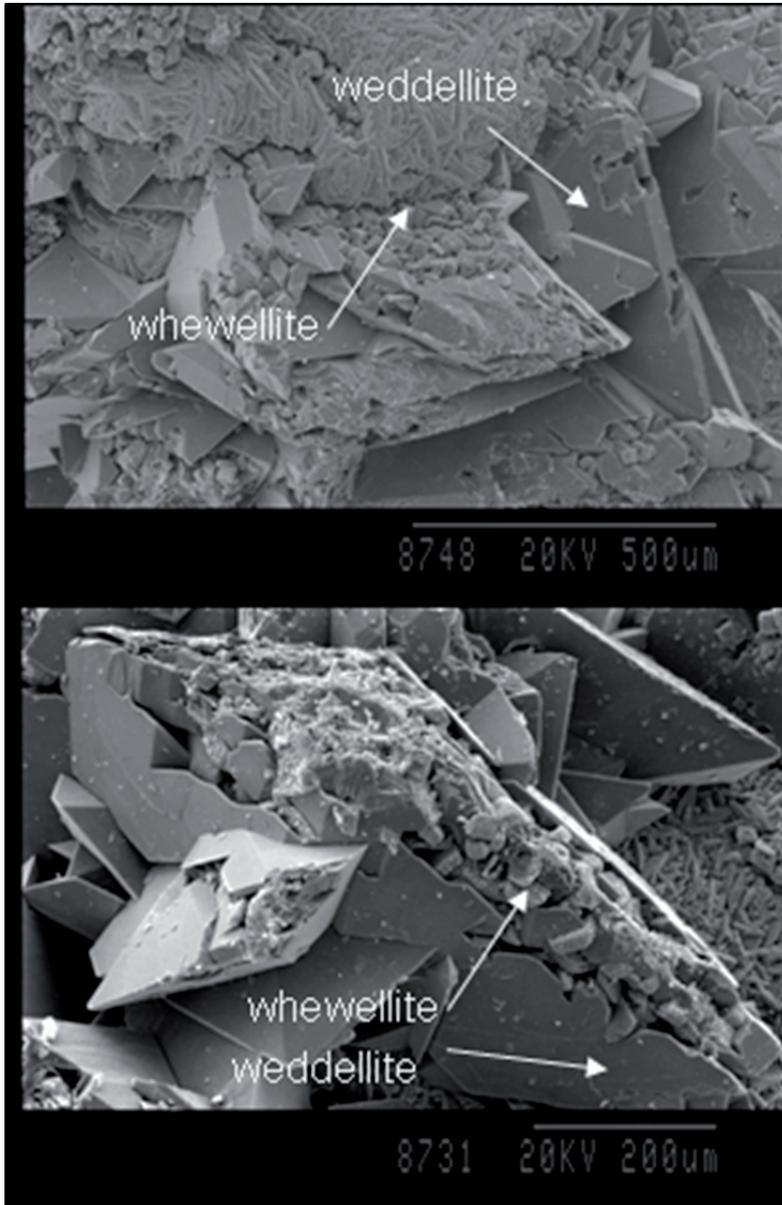


Figura 3.28 Trasformazione di weddellite in whewellite al SEM

Weddellite transformation in whewellite, photo at SEM

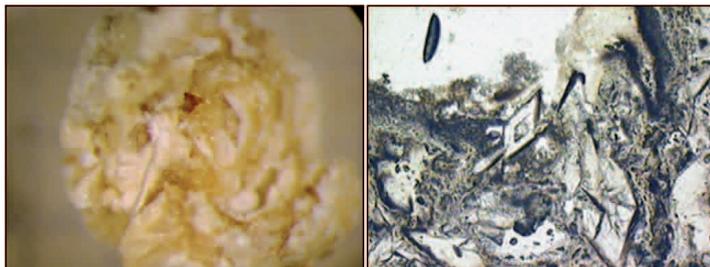


Figura 3.29 Impronta di weddellite in cristalli di idrossapatite: allo stereo-microscopio (sx), in sezione sottile al microscopio ottico (dx) (#53)

Phantom of weddellite in hydroxyapatite crystals: at stereo-microscopy (sx) and in thin section (dx)

L'idrossapatite è un minerale che si distingue bene dagli altri ma non dagli stessi minerali apatitici, perché si presentano tutti di colore bianco con un aspetto simile. Una diversa morfologia è riconoscibile solo ad alti ingrandimenti.

L'idrossapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH},\text{CO}_3)$, per esempio, si presenta come componente sia maggiore che minore (fig. 3.30). I cristalli di idrossapatite cristallizzano nel sistema esagonale di-piramidale.

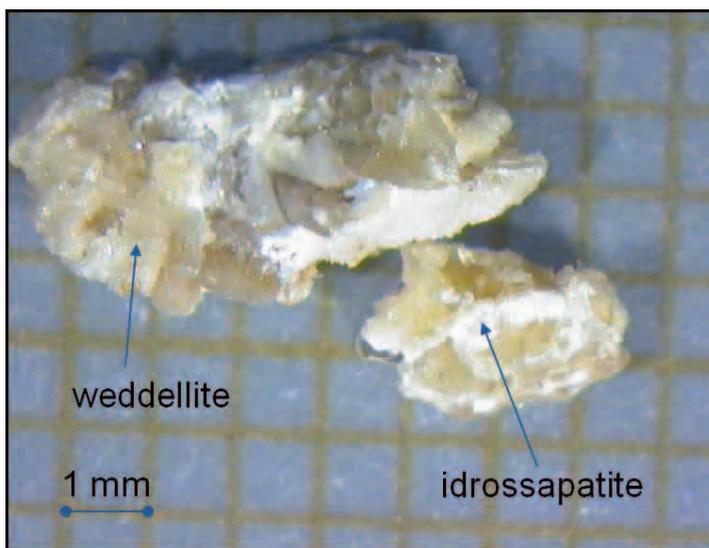


Figura 3.30 Calcolo misto di weddellite ed idrossapatite come componente minore (#10)

Mixed kidney stone made of weddellite and little amount of hydroxyapatite

I cristalli di idrossapatite possono presentarsi con un duplice abito: come una serie di strati di materiale amorfo che sono conosciuti come strati aspidinici

di idrossapatite, oppure come piccole sfere di $0.1\ \mu\text{m}$ di diametro. Entrambe le morfologie sono riconoscibili al microscopio elettronico a scansione (fig. 3.31a, b).

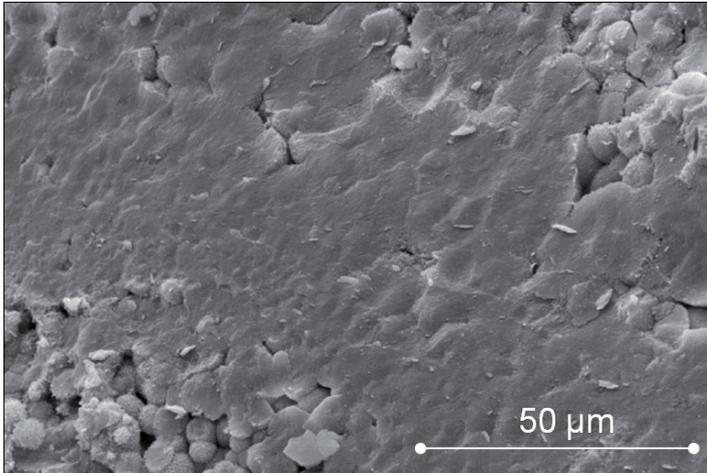


Figura 3.31a Cristalli di idrossapatite al SEM nella forma aspidinica
Hydroxyapatite crystals in aspidinic form, SEM observation

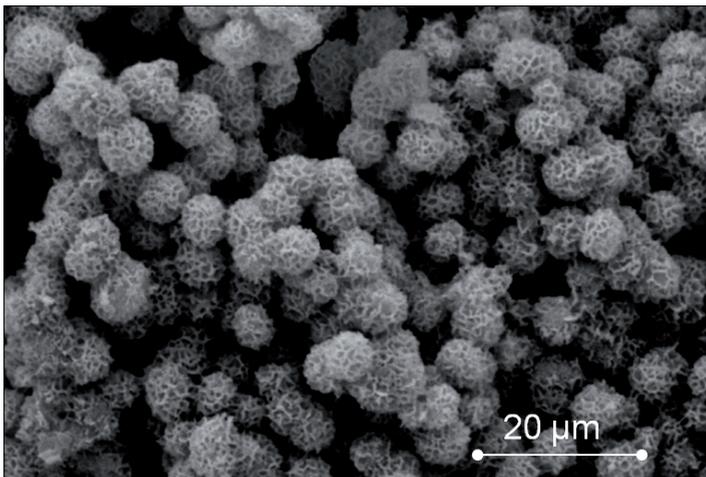


Figura 3.31b Cristalli di idrossapatite al SEM come piccole sfere
Hydroxyapatite crystals as small spheres, SEM observation

L'idrossapatite in sezione sottile è ben distinguibile dagli ossalati, a cui è spesso associata, per i più bassi colori d'interferenza (fig. 3.32).

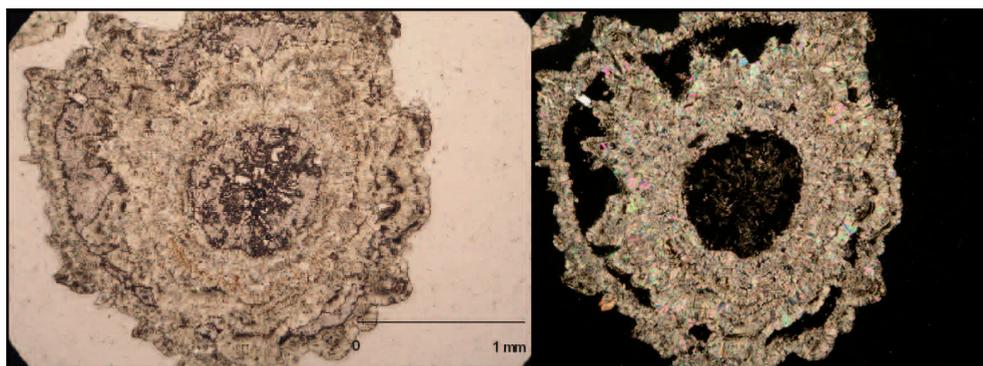


Figura 3.32 Sezione di calcolo misto al microscopio ottico a luce polarizzata parallela (sx) ed incrociata (dx) (#53)

Thin section of mixed kidney stone, optical microscopy observation: polarized light (sx) and nicols X (dx)

Dall'analisi strutturale si è potuto apprezzare anche la porosità dei vari tipi di calcoli.

Esiste la convinzione errata che a strutture porose corrispondano calcoli meno duri e viceversa, confondendo la durezza del singolo minerale con la durezza dei suoi aggregati.

Osserviamo il caso dei fosfati; nonostante abbiano una durezza pari a 5 sulla scala di Mohs, i calcoli sono tra i meno duri da distruggere con tecniche di litotrissia.

Non si osservano di solito macroporosità nei calcoli, ma piccoli spazi vuoti specie nei calcoli misti al contatto tra fasi mineralogiche diverse.

La forma del minerale influenza la porosità. I calcoli che contengono weddellite sono calcoli porosi, come pure quelli di struvite.

La struvite $(\text{NH}_4)\text{Mg}(\text{PO}_4) \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, un altro minerale che compone per intero alcuni calcoli analizzati, appartiene al gruppo dei fosfati e come tale risulta difficile il riconoscimento del singolo cristallo allo stereo-microscopio ottico, perché si presenta di colore bianco con un aspetto simile agli altri fosfati.



Figura 3.33 Esempi di calcoli di struvite (#12) allo stereo-microscopio
Examples of struvite kidney stones, stereo-microscopy observation

I calcoli formati interamente da struvite, sono però riconoscibili per le grandi dimensioni che possono raggiungere e per il loro aspetto coralliforme (fig. 3.33).

L'analisi della struttura è risultata superflua per questa tipologia di calcoli i cui cristalli non sembrano seguire una qualche organizzazione strutturale ma si può apprezzare l'elevata porosità (fig. 3.34).

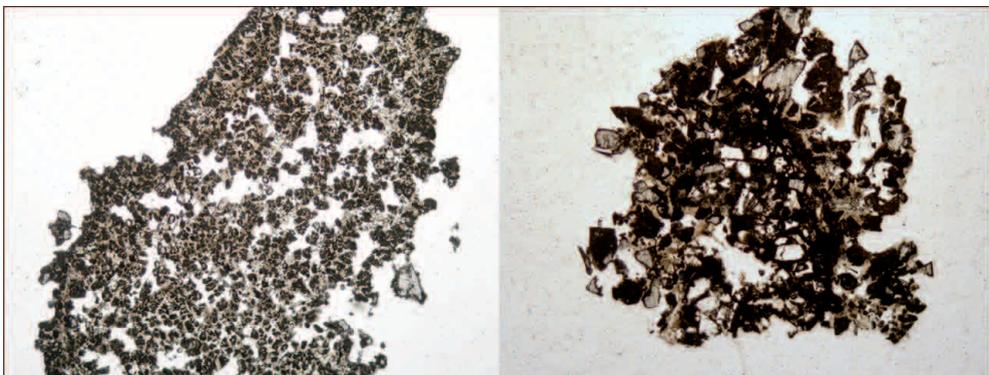


Figura 3.34 Sezioni sottili di calcoli di struvite (#9, 12) al microscopio ottico
Thin sections of struvite kidney stones, optical microscopy observation

Nonostante la porosità, questi calcoli risultano tra i più pesanti raccolti (peso medio 155mg).

Uno di questi mostra la presenza dell'impronta di un corpo esterno sul quale il calcolo si è sviluppato (fig. 3.35).

Dalle informazioni reperite dal questionario epidemiologico del paziente è emerso che trattasi di una persona cateterizzata. Presumibilmente, il catetere ha svolto la funzione di nucleo per lo sviluppo del calcolo di struvite.

La presenza del catetere può testimoniare ulteriormente che un ambiente maggiormente propenso ad infezioni crea le condizioni ideali per lo sviluppo di calcoli di struvite, e che il substrato su cui può attecchire un cristallo non deve essere necessariamente minerale e/o biologico.



Figura 3.35 Calcolo di struvite cresciuto intorno ad un supporto esterno (#20)

Struvite kidney stone growth on external object

La struttura che accomuna i calcoli composti prevalentemente da weddellite prende le sembianze di una rosa (fig. 3.36) con i grandi cristalli di weddellite e piccoli cristalli, da subedrali a euedrali, di whewellite all'interno del calcolo.

La superficie di questi calcoli è rugosa e composta da cristalli di weddellite. Si riconosce una moderata porosità spesso riempita da cristalli di idrossapatite.

Questo tipo di calcoli hanno dimensioni e peso variabili. Entrambe le misure risentono della presenza dell'idrossapatite che li rende più solidi, tanto da poter raggiungere maggiori dimensioni.

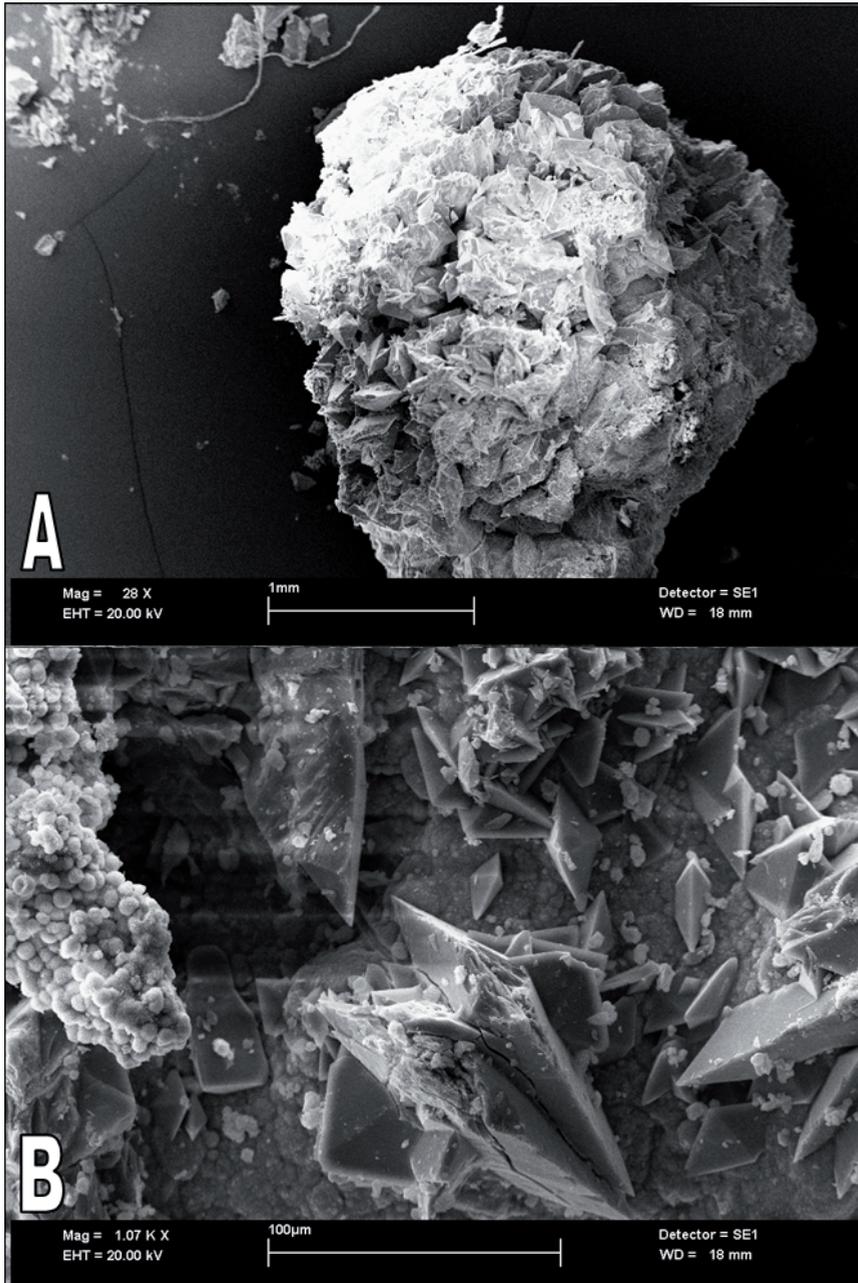


Figura 3.36 Calcolo di weddellite al SEM: A) panoramica della superficie esterna; B) cristalli di weddellite con sfere di idrossapatite che riempiono i pori
Weddellite kidney stone, SEM observation: A) external surface; b) weddellite crystals and void filled by hydroxyapatite spheres

I NUCLEI DI ACCRESCIMENTO

Il nucleo è il primo elemento che si forma dalla soluzione urinaria, sul quale si accrescerà l'intero calcolo. In alcuni campioni il nucleo di accrescimento è ben evidente tanto da riuscirne a determinare la composizione. In altri calcoli, invece, non si riesce ad identificare perché formato dalla stessa fase mineralogica dell'intero calcolo e/o perché la struttura interna, e quindi il tipo di accrescimento del calcolo, non lo consente.

Un nucleo è comunque sempre presente se lo definiamo come il primo cristallo o aggregati di cristalli che, precipitando dalla soluzione, si depositano e fungono da substrato per le successive cristallizzazioni.

In quasi tutti i calcoli è possibile delimitare il nucleo che a volte rappresenta una porzione significativa dell'intero calcolo, mentre altre è solo un piccolo punto circondato da laminazioni concentriche.

E' possibile osservare nuclei disposti perfettamente al centro del calcolo o localizzati in una zona periferica. La corretta identificazione del nucleo consente di stabilire un ordine di deposizione dei restanti componenti omogenei o caratterizzati da strati, concentrici o radiali.

Il nucleo può avere la stessa composizione dell'intero calcolo, quindi derivare dalla sovrassaturazione dell'urina, ma può avere anche una composizione differente. Talvolta possono fungere da nucleo anche detriti microscopici presenti nell'urina, artefatti o corpi estranei. Fungono da nucleo anche le pacche di calcio che si depositano sulla papilla renale (placche di Randall).

Particolare attenzione è stata rivolta, quindi, all'individuazione di un eventuale punto di contatto con la papilla renale (fig. 3.37).

Il 12% dei calcoli analizzati presenta un evidente punto di contatto papillare, confermato anche dall'analisi della struttura interna che evidenzia la presenza di un nucleo decentrato (fig. 3.38) [Giannossi et al. 2009].



Figura 3.37 Calcoli di whewellite con evidente punto di contatto papillare (#39, 17)

Whewellite kidney stones with a clear point of attachment of kidney papilla

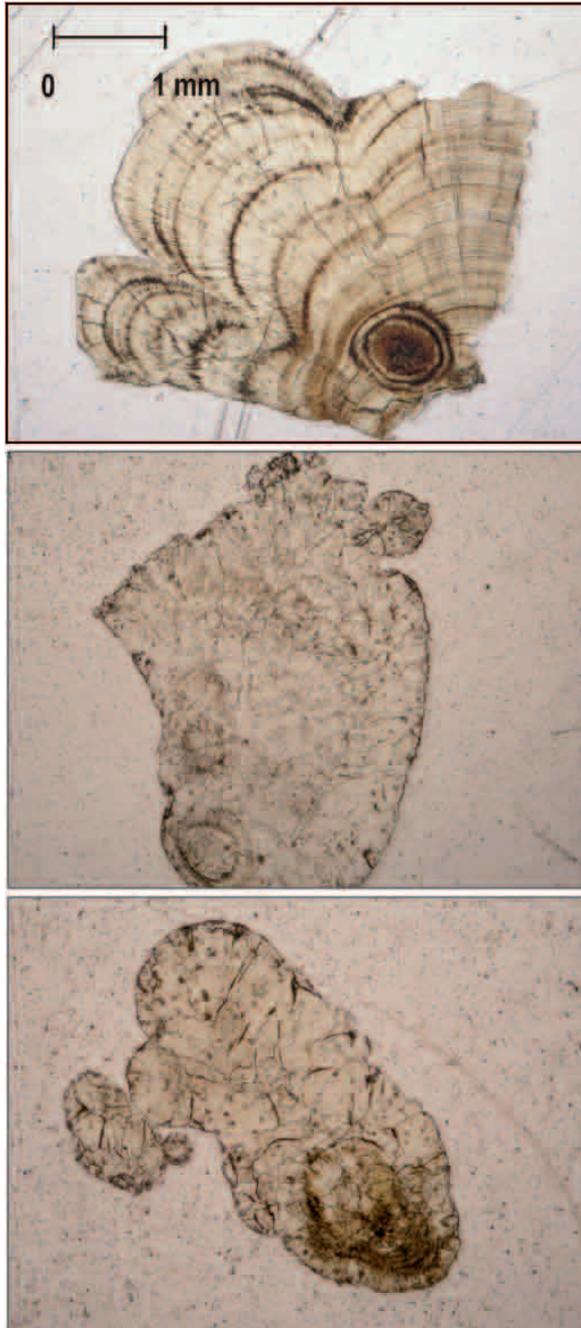


Figura 3.38 Calcoli di whewellite in sezione sottile al microscopio ottico con evidente nucleo decentrato (#47, 56, 39)

Whewellite kidney stones in thin section with a decentrate core, optical microscopy observation

Grazie alle osservazioni effettuate su sezioni sottili di calcoli renali è stato possibile rilevare la presenza di più nuclei.

Come si osserva, infatti, i calcoli di whewellite presentano al loro interno più nuclei di accrescimento.

Questa forma di aggregazione sferica è quella più adatta in condizioni di crescita non stazionaria (non in equilibrio), come quella di una soluzione urinaria con condizioni che prevedono un mezzo viscoso di cristallizzazione, bassa temperatura di cristallizzazione ed alto grado di sovrassaturazione che promuove un alto tasso di crescita dei cristalli, favorisce meccanismi di cattura di inclusioni e sviluppo di impurità strutturali [Sokol et al. 2005].

Queste fasi di crescita sono poi accompagnate da periodi di dissoluzione consentendo così la fusione di questi aggregati (fig. 3.39).

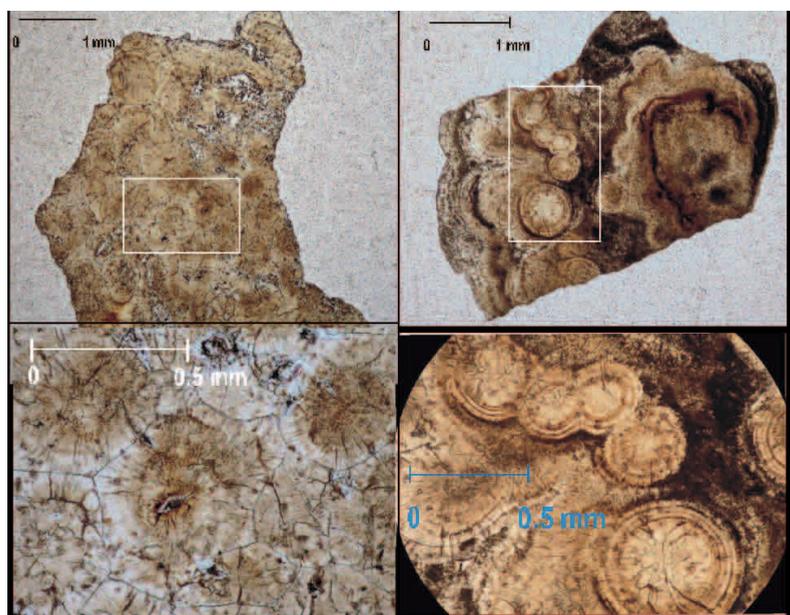


Figura 3.39 Dettaglio di calcoli di whewellite con multi nuclei sferici (#4, 50)
Detail of whewellite kidney stones with multi-spherical cores

I cristalli di whewellite colonnari sviluppati da diversi nuclei procedono autonomamente nella crescita e finiscono per ostacolarsi a vicenda (fig. 3.40).

Talvolta il nucleo di un calcolo è rappresentato da frammenti di calcoli precedenti che hanno subito un trattamento di litotrissia che però non lo ha ridotto a dimensioni tali da poterlo facilmente espellere o eliminare con un trattamento farmacologico appropriato [Costa-Bauzà et al. 2005] (fig. 3.41).

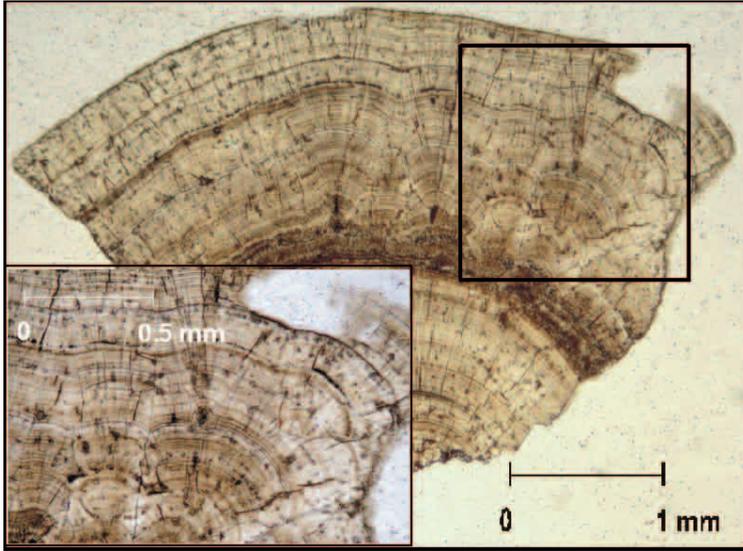


Figura 3.40 Dettaglio di cristalli di whewellite colonnare sviluppati su nuclei differenti (#69)
Detail of columnar whewellite crystals growth on different cores

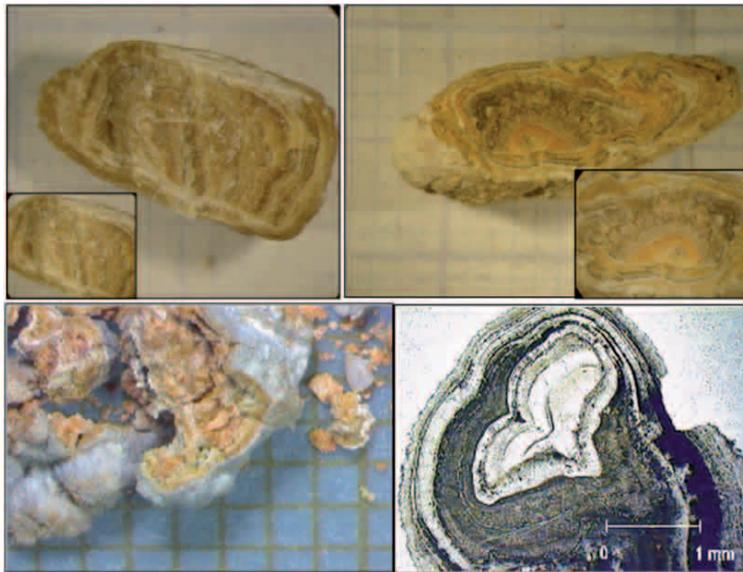


Figura 3.41 Esempi di sviluppo di calcoli su precedenti frammenti (#49, 34, 7)
Examples of kidney stones growth on previous fragments

3.3.2 Classificazione dei calcoli renali

La struttura interna, l'aspetto esterno e le relazioni che intercorrono fra i componenti mineralogici principali e non, consentono di classificare gli 80 calcoli renali analizzati in 8 gruppi e 16 tipi differenti sulla base dello schema proposto da Grases et al. [1998].

Tale schema rappresenta un tentativo di classificare i calcoli renali sulla base di questi dati correlandoli a specifiche condizioni pato-fisiologiche quali le alterazioni della composizione urinaria (es. ipercalciuria, iperossaluria).

Il lavoro di Grases et al. [1998] è servito per implementare e rendere fruibile la classificazione già proposta da Daudon et al. [1993] che risultava alquanto complessa e non molto funzionale.

Tabella 3.7 Schema classificativo di calcoli renali sulla base di Grases et al. 1998
Kidney stone classification scheme based on Grases et al. 1998

GRUPPO	Descrizione	TIPO	Descrizione	SOTTOTIPO	Descrizione
1	Ossalato di calcio mono-idrato (whewellite) - papillare	1a	nucleo di whewellite e/o materia organica	1aI	nucleo di materia organica
				1aII	nucleo di materia organica e whewellite
		1b	nucleo di idrossapatite e/o materia organica	1bI	nucleo di idrossapatite
				1bII	nucleo di idrossapatite e materia organica
2	Ossalato di calcio mono-idrato (whewellite) - di cavità	2a	nucleo di whewellite e materia organica		
		2b	nucleo di idrossapatite e materia organica		
		2c	nucleo urico		
3	Ossalato di calcio bi-idrato (weddellite)	3a	solo weddellite	3aI	senza trasformazione
				3aII	con trasformazione
		3b	idrossapatite in piccole quantità	3bI	nucleo di idrossapatite
				3bII	idrossapatite tra i cristalli
				3bIII	idrossapatite e materia organica
3c	papillare				
4	Weddellite + idrossapatite			4I	stratificato
				4II	disordinato
5	Idrossapatite	5a	solo idrossapatite		
		5b	weddellite in minore quantità		
6	Struvite				
7	Bruscite				
8	Acido Urico	8a	solo acido urico	8aI	compatto
				8aII	stratificato
				8aIII	disordinato
		8b	acido urico + acido urico deidratato	8bI	stratificato
8bII	disordinato				
8c	urati				
9	Whewellite + acido urico			9I	papillare
				9II	non papillare
10	Cistina				
11	Vari - poco frequenti	11a	materia organica e/o necrosi papillare		
		11b	farmacologico		
		11c	artefatto (semi...)		

I campioni attribuibili ad un preciso gruppo, senza margine di errore, sono quelli composti interamente da cistina (#15) e da struvite (#9, 12, 20), attribuibili al gruppo 10 e 6, rispettivamente. La sola determinazione della composizione

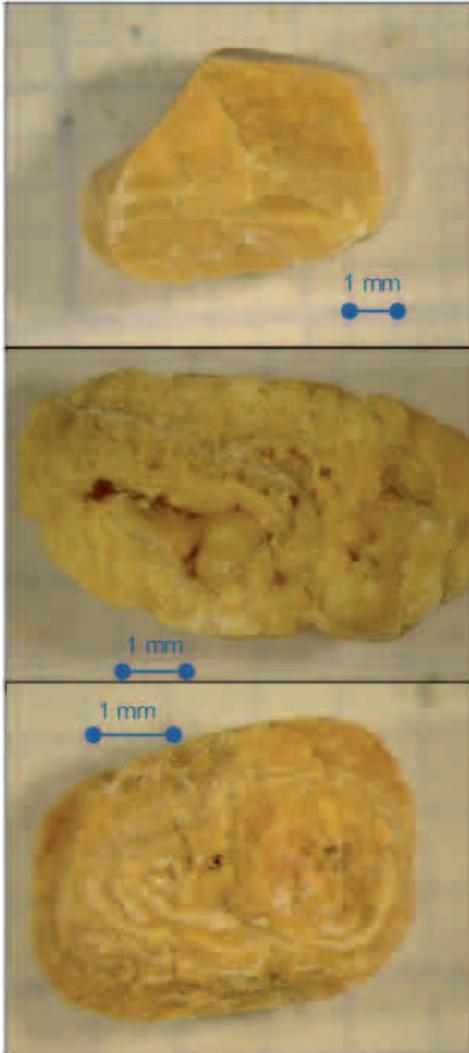


Figura 3.42 Calcoli di acido urico con diversa struttura interna (#55, 29, 60)
Uric acid kidney stone with different structure

mineralogica ha consentito questa attribuzione. Non si riscontrano delle strutture particolari al loro interno tali da rendere necessaria la creazione di tipologie diverse.

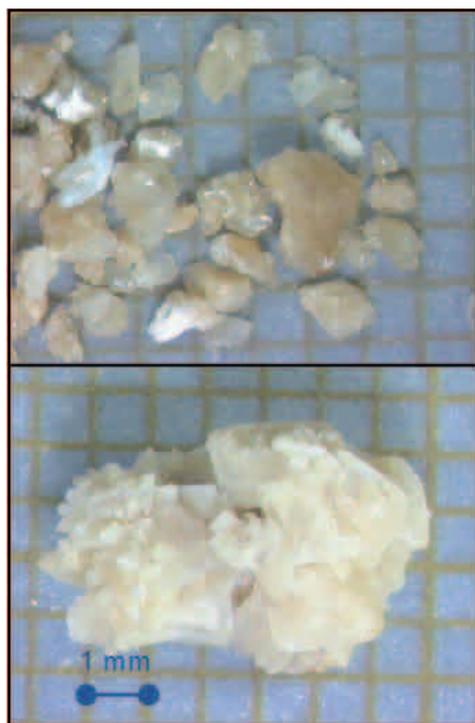
Per quel che riguarda i calcoli composti interamente da acido urico sono stati attribuiti al gruppo 8, tipologia 8a in quanto non sono stati riscontrati calcoli contenenti acido urico de-idratato (tipo 8b) ed urati (tipo 8c).

Per l'assegnazione alle diverse tipologie possibili è necessario far riferimento alla struttura interna osservata (fig. 3.42).

Pertanto 9 calcoli di acido urico sono attribuiti al sottotipo 8aI corrispondente a calcoli composti interamente da acido urico ma con struttura interna compatta, altri 4 calcoli sono attribuibili al sottotipo 8aII per una struttura interna a strati e solo uno corrisponde alla descrizione di un calcolo di acido urico di tipo 8aIII a causa della sua struttura interna disordinata.

La classificazione dei campioni contenenti le diverse forme dell'ossalato di calcio è più complessa perché necessita della fusione di più informazioni derivanti dalla composizione mineralogica e dalle osservazioni macroscopiche e microscopiche della struttura interna ed esterna dei calcoli.

I 33 campioni che contengono, in diversa quantità, la weddellite possono essere variamente classificati.



**Figura 3.43 Calcoli di weddellite pura
affidenti al sottotipo 3aI (#5, 28)**

*Pure weddellite kidney
stones included in subtype 3aI*

Escludendo la presenza di altre fasi mineralogiche 5 di loro possono essere classificati come calcoli di weddellite pura (tipo 3a), senza trasformazione (sottotipo 3aI) (fig. 3.43), dove per trasformazione si intende il polimorfismo tra weddellite e whewellite.

Ci sono, infatti, campioni che sono composti oltre che da weddellite anche da whewellite in quantità variabile (2-95%), come emerge dai profili diffrattometrici.

Dall'analisi dei campioni al SEM è emerso che la whewellite in questione deriva dalla trasformazione della weddellite, quindi ci troviamo di fronte a calcoli del sottotipo 3aII: weddellite pura con trasformazione. Rientrano in questo sottotipo ben 13 calcoli renali analizzati, con grado di trasformazione variabile da leggera a molto spinta tanto che la quantità di whewellite riscontrata è di molto

superiore a quella della weddellite (#43).

A causa della morfologia dei cristalli di weddellite è molto raro ritrovare calcoli di weddellite che si accrescono attaccati alla papilla renale. Nei campioni analizzati non sono stati riscontrati casi del genere (tipo 3c).

In ben 15 campioni è stata rilevata la presenza di un fosfato di calcio che, dalla diffrazione, emerge essere in alcuni casi idrossapatite ed in altri struvite. La quantità rilevata è molto variabile, da tracce a percentuali superiori al 50%. Nel primo caso è possibile ritrovare l'idrossapatite o la struvite tra i cristalli di weddellite (fig. 3.44).

Tra 8 campioni che presentano questa situazione, 5 sono classificati come calcoli del tipo 3b, sottotipo 3bII, cioè calcoli di weddellite ma con la presenza tra i cristalli di piccole quantità di idrossapatite, ma i restanti 3 non trovano riscontro in alcun sottotipo della classificazione proposta da Grases et al. [1998].

Non sono stati rilevati casi di calcoli di weddellite che presentassero una

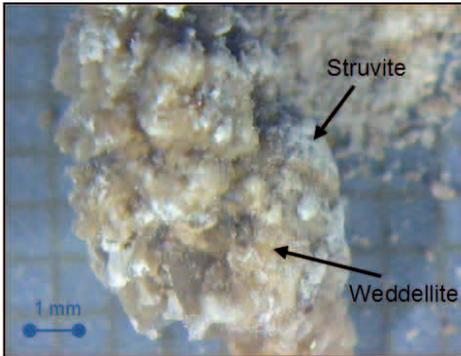


Figura 3.44 Calcolo di weddellite con piccole quantità di struvite (#71)

Weddellite kidney stone with little amount of struvite



Figura 3.45 Calcolo misto di weddellite e struvite (#59)

Mixed kidney stone made of weddellite and struvite

quantità di idrossapatite tale da formare il nucleo del calcolo (sottotipo 3bI), né tanto meno idrossapatite in associazione con materia organica (sottotipo 3bIII).

Se si riscontra, invece, la presenza di fosfati in quantità comparabile a quella della weddellite, si è in presenza di un calcolo misto, classificato come gruppo a se stante, tipo 4 se trattasi di idrossapatite. Nella classificazione non è contemplata la presenza di un calcolo misto weddellite/struvite (fig. 3.45).

L'assegnazione dei 5 calcoli alle due tipologie del gruppo 4, necessita lo studio della struttura interna del campione.

Di questi, ben 2 rientrano nel sottotipo 4I: calcoli misti di weddellite ed idrossapatite con struttura a strati, dal momento che è ben visibile un'alternanza di strati di weddellite ed idrossapatite. Dai dati diffrattometrici risulta anche una piccola percentuale di whewellite.

Gli altri calcoli del gruppo 4, presentano una quantità comparabile di weddellite ed idrossapatite, ma il calcolo al suo interno risulta totalmente disorganizzato. Pertanto questi campioni rientrano nel sottotipo 4II (fig. 3.46). Anche in questo caso sono state riscontrate delle piccole percentuali di whewellite derivante dalla trasformazione della weddellite.

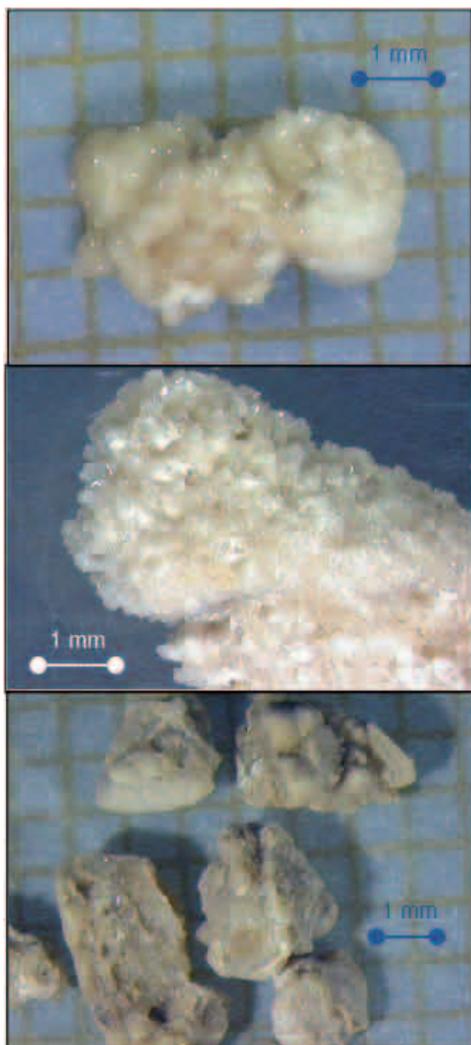


Figura 3.46 Calcoli misti weddellite ed idrossapatite del sottotipo 4II (#10, 35, 45)

Mixed kidney stones made of weddellite and hydroxyapatite of subtype 4II

Altri 24 campioni contengono una considerevole quantità di whewellite che ne costituisce, quindi, il componente principale. Ciò che differenzia i diversi campioni non è quindi la composizione mineralogica quanto la struttura. Infatti, già la sola forma esterna mi consente di differenziare i calcoli del gruppo 1 da quelli del gruppo 2.

Avendo riscontrato in 9 calcoli composti da whewellite un evidente punto di contatto papillare, un nucleo decentrato (ben visibile in sezione sottile) e localizzato proprio in corrispondenza di una concavità esterna del calcolo, è possibile considerare questi campioni appartenenti al gruppo 1: calcoli di whewellite di tipo papillare (fig. 3.47).

Tra questi è possibile fare un'ulteriore differenziazione. Dal momento che è stato possibile identificare la composizione del nucleo, in tutti e 9 i campioni non sono stati riscontrate tracce di idrossapatite ma il nucleo, anche se di piccole dimensioni, risulta prevalentemente formato da materia organica, quindi tutti i calcoli rientrano nel tipo 1a, escludendo la presenza di calcoli del tipo 1b: calcoli di whewellite con nucleo di idrossapatite e materia organica.

Tra questi 9 campioni, dal momento che nel nucleo sono stati identificati anche cristalli di whewellite è possibile assegnare sette di questi al sottotipo 1aII.

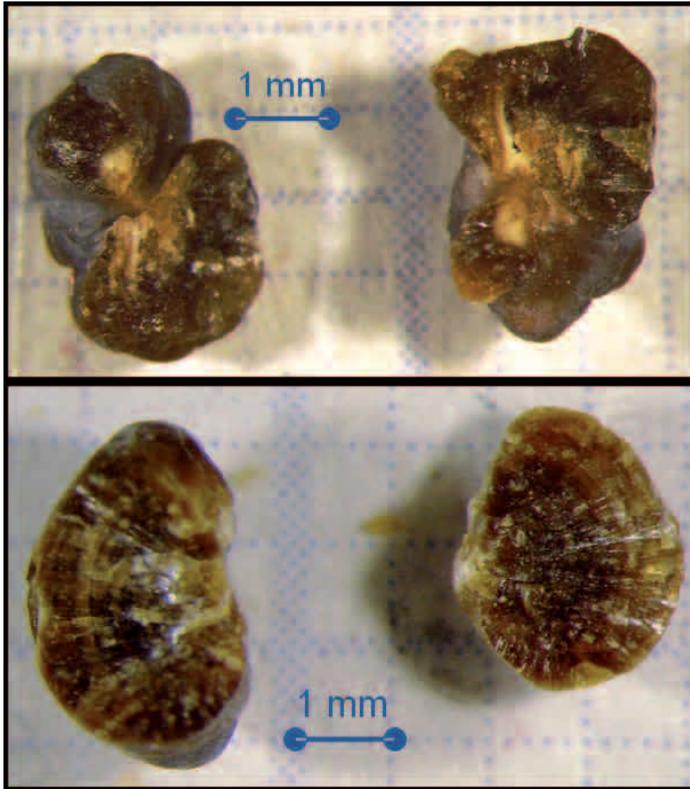


Figura 3.47 Calcoli appartenenti al tipo 1a (#25 – sottotipo 1aII; #54 – sottotipo 1aI)
Kidney stones included in type 1a

I restanti 15 campioni, contenenti prevalentemente whewellite, non presentando nessun evidente punto di contatto papillare e mostrando un nucleo centrale ed una morfologia sub-sferica, possono essere classificati nel gruppo 2 come calcoli di whewellite che si formano in cavità renali. Tra questi 15 campioni, dopo la corretta identificazione della composizione del nucleo vengono assegnati a due tipologie differenti: 8 di loro al tipo 2a aventi il nucleo composto da whewellite e materia organica; gli altri 7 al tipo 2b con nucleo di whewellite ed idrossapatite.

Negli ultimi 5 campioni da classificare, la percentuale di whewellite è comparabile a quella di acido urico (circa 50%). Questi calcoli sono classificati nel gruppo 9 come calcoli misti di cui uno di tipo papillare dal momento che si riconosce un punto di contatto ed un nucleo decentrato (tipo 9I), gli altri 4 afferiscono al tipo 9II non papillari.

Non sono stati riscontrati calcoli afferenti al gruppo 11: calcoli poco frequenti.

3.3.3 Relazione tra la classificazione morfo-composizionale ed i fattori etiologici dei calcoli renali

Nell'attività di ricerca non è stato previsto il dosaggio delle urine dei pazienti/donatori dei calcoli renali acquisiti, soprattutto perché la raccolta delle urine su 24 ore (comunemente usata per l'analisi chimica) anche se è utile per determinare quale trattamento dietetico e/o farmacologico assegnare al paziente [Chai et al. 2004; Stitchantrakul et al. 2004; Williams et al. 2001] presenta il limite di essere una fotografia della composizione chimica dell'urina in quel momento.

Considerato l'elevata variabilità della composizione dell'urina, questa non è assimilabile a quella passata, cioè nel momento della formazione del calcolo. E' perciò inutile questa procedura se l'obiettivo è determinare l'etiologia chimica e la struttura dei calcoli renali prodotti.

La *stone analysis* rimane, quindi, l'unica procedura per studiare a pieno la nefrolitiasi.

Nell'analisi dei calcoli sono state riscontrate una serie di depositi superficiali che testimoniano il cambiamento della composizione urinaria, specie se i depositi superficiali risultano essere composti da minerali differenti rispetto all'intero calcolo.

I calcoli composti interamente da struvite sono legati ad infezioni urinarie. Se non trattata opportunamente con antibiotici [Rieu 2005] l'infezione permane e si espone il paziente a recidive, come è successo nel caso in esame.

I calcoli di struvite sono stati espulsi esclusivamente da donne (con età >55 anni), che sono storicamente più soggette a questa tipologia di calcolo. Lo sviluppo di questo tipo di calcolo è legato ad un pH urinario >7.0 che può essere causato tra l'altro da una dieta vegetariana, come riscontrato dai casi analizzati ed ad un consumo di acque oligominerali con pH >7.0. Non si riscontrano casi di familiarità tra i soggetti coinvolti.

L'unico calcolo di cistina ritrovato appartiene ad una donna di 47 anni. La maggiore causa di sviluppo di questi calcoli è legato all'iperclistinuria che può avere caratteri genetici, come per il caso in questione che evidenzia un'ereditarietà della patologia. Anche la dieta seguita dal soggetto con un eccesso di carne e uova (alimenti ricchi in cistina) ha avuto il suo ruolo nella formazione di questo tipo di calcolo.

L'abbondanza di calcoli di acido urico è ristretta ai pazienti di sesso maschile (86% dei casi). Il più importante fattore di rischio per la cristallizzazione di acido urico è la presenza di un ambiente fortemente acido (pH < 5.5), nel quale i cristalli di acido urico non si disciolgono [Ferrari & Bonny 2004].

Questa situazione associata a una iperuricosuria è legata alle abitudini alimentari ed alla tipologia di acque ingerite. Un eccesso di assunzione di proteine

animali [Anderson 1972; Drach 1978; Robertson & Peacock 1982; Park et al. 1994] è stata riscontrata nei pazienti, con evidente eccesso di peso corporeo come pure un consumo costante di alcool [Schlesinger 2005].

La scarsità di assunzione di bevande gassate ma soprattutto l'utilizzo di acque debolmente bicarbonatiche (imbottigliate o meno) non ha favorito nei soggetti l'alcalinizzazione delle urine per consentire lo scioglimento dei cristalli di acido urico che sono la tipologia di calcoli più facili da prevenire e da curare perché, come si è visto, sono facilmente solubilizzabili in vivo.

Per i calcoli di ossalato di calcio, l'attenzione è stata posta sulle potenziali fonti di ossalati. Una parte di questi vengono prodotti direttamente dall'organismo e la quantità prodotta è direttamente proporzionale al peso corporeo [Massey 2003]. Tra le persone affette da calcoli di ossalato di calcio, si registra in media un eccesso di massa corporea specie nei casi di calcoli di whewellite formati in cavità renali.

Nessuna relazione è stata, invece, riscontrata circa la maggiore assunzione di cibi contenenti ossalati (es. spinaci e bietole), che non vengono consumati con frequenza, ma è pur vero che il numero di vegetali contenenti ossalato è molto ampio quindi questo risultato potrebbe dipendere da una carenza informativa del questionario. Una diretta relazione tra dieta ricca in ossalati e iperossaluria urinaria è ben nota [De Mendonca et al. 2003; Brinkley et al. 1990; Holmes et al. 2000, 2001].

Le minori quantità di ossalato ingerito potrebbero però essere compensate da una ridotta assunzione di calcio tra i soggetti coinvolti, confermando l'ipotesi di alcuni autori circa l'antagonismo tra calcio ed ossalati. La secrezione urinaria di questi ultimi aumenterebbe solo quando il calcio è in minore quantità [Marshall et al. 1972; Hess 1996; Breslau et al. 1988].

Un maggior consumo di acque oligominerali sembra essere associato a calcoli di ossalato con percentuali di fosfati favoriti da un aumento del pH.

Per tutti i casi riscontrati si registra un basso consumo di liquidi, non raggiungendo i 2L consigliati, per assicurarsi un elevato volume urinario [Goldfarb 1988, 1990].

3.3.4 Prevalenza e distribuzione geografica dei calcoli renali

A seguito della classificazione degli 80 campioni analizzati, è stata determinata la percentuale di prevalenza dei vari gruppi, tipi e sottotipi di calcoli di pazienti lucani.

Tabella 3.8 Distribuzione percentuale dei calcoli analizzati in Basilicata
Kidney stones percentage distribution analyzed in Basilicata

GRUPPO	Percentuale	TIPO	Percentuale	SOTTOTIPO	Percentuale	% TOTALE
1	11%	1a	11%	1aI	3%	Ossalato di calcio 59%
				1aII	9%	
		1b	0%	1bI	0%	
				1bII	0%	
2	19%	2a	10%			
		2b	9%			
		2c	0%			
3	29%	3a	23%	3aI	7%	
				3aII	16%	
		3b	6%	3bI	0%	
				3bII	6%	
				3bIII	0%	
		3c	0%			
4	6%			4I	3%	Misto weddellite + idrossapatite 6%
				4II	3%	
5	0%	5a	0%			Fosfati di calcio 4%
		5b	0%			
6	4%					
7	0%					
8	18%	8a	18%	8aI	11%	Acido urico 18%
				8aII	6%	
				8aIII	1%	
		8b	0%	8bI	0%	
				8bII	0%	
8c	0%					
9	6%			9I	1%	Misto whewellite + acido urico 6%
				9II	5%	
10	1%					Cistina 1%
11	0%	11a	0%			Poco frequenti 0%
		11b	0%			
		11c	0%			

In base a questi risultati osserviamo che i calcoli più diffusi tra la popolazione della Basilicata sono quelli che hanno una componente prevalente di ossalato di calcio (59%). Tra questi i più diffusi sono quelli composti da weddellite (29%) formata in cavità renali. Importante anche la presenza di una percentuale elevata (11%) di calcoli di whewellite accresciuti attaccati alle pareti renali.

Le associazioni mineralogiche composte da weddellite ed idrossapatite e whewellite ed acido urico hanno una uguale percentuale di prevalenza (6%). Non sono stati inclusi in questa classificazione i 5 calcoli con associazione weddellite e struvite, non essendo presente una categoria idonea a contenerli. Rappresentano il 6% dei calcoli totali analizzati.

Questo nuovo gruppo di calcoli saranno denominati d'ora in avanti: gruppo 4*.

I nuclei dei calcoli composti in prevalenza di ossalato mostrano una abbondanza di materia organica. La weddellite si presenta più frequentemente trasformata in whewellite.

Sono molto diffusi anche i calcoli composti da solo acido urico (18%), con una maggiore prevalenza di quelli con struttura interna compatta.

Tra i fosfati l'unica rappresentanza spetta alla struvite con il 4% di prevalenza tra gli 80 calcoli analizzati. La bassa percentuale di prevalenza della cistina corrisponde all'unico calcolo riscontrato.

La distribuzione degli otto gruppi di calcoli è differente se confrontiamo i calcoli espulsi dagli uomini e dalle donne (fig. 3.48). Quest'ultime sono più soggette a calcoli del gruppo 6 della struvite e del gruppo 2 whewellite formatasi in cavità. Gli uomini sono più soggetti a calcoli di acido urico e di weddellite.

I calcoli di whewellite di tipo papillare hanno una frequenza simile nei due gruppi. La nuova tipologia riscontrata tra i pazienti lucani (gruppo 4*) è più frequente negli uomini.

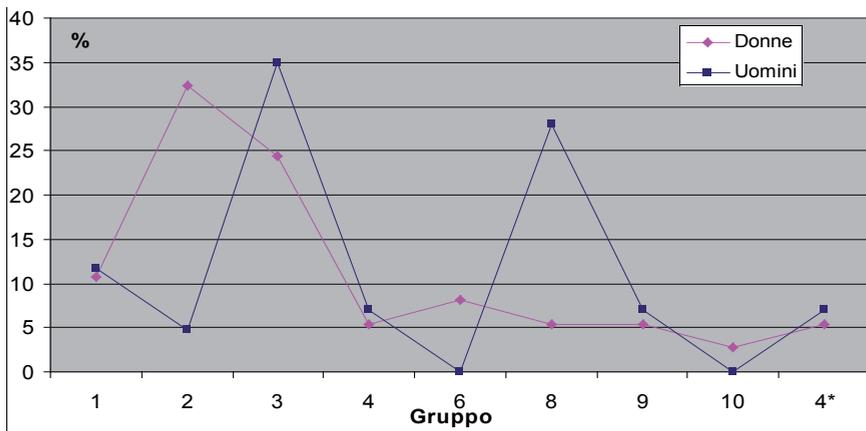


Figura 3.48 Distribuzione dei calcoli tra uomini e donne

Gender distribution of kidney stones

L'età influisce molto sulla tipologia di calcoli (fig. 3.49). Nei giovani di età inferiore ai 30 anni sono molto più frequenti i calcoli di weddellite mentre negli ultra sessantenni prevalgono quelli di acido urico. I calcoli papillari di whewellite sono più diffusi nell'età adulta.

La stratificazione per età e per genere della frequenza dei diversi gruppi di calcoli (fig. 3.50) mostra che i calcoli di weddellite (gruppo 3-molto diffusi) si concentrano nelle giovani donne (<30 anni) e negli uomini adulti (31-60 anni).

Quelli di acido urico (gruppo 8) sono di totale dominio maschile con un massimo negli ultrasessantenni. Le donne più anziane risentono dei problemi di infezioni urinarie e quindi producono calcoli di struvite (gruppo 6).

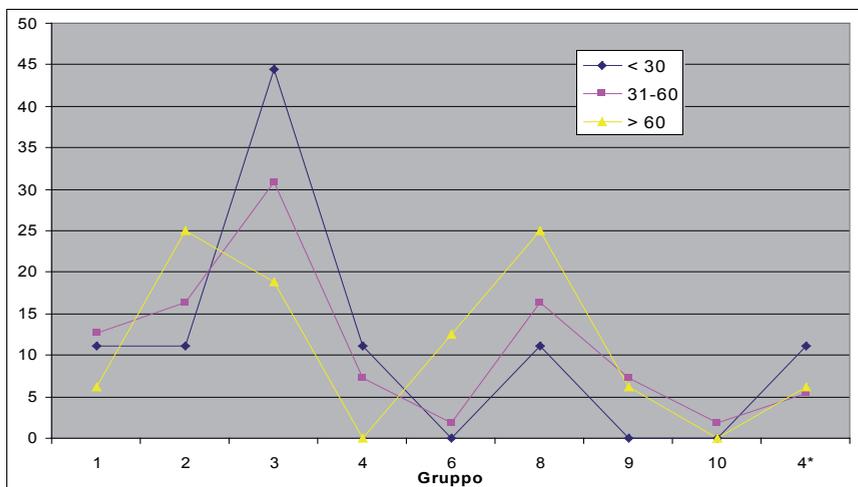


Figura 3.49 Distribuzione dei calcoli per fasce di età
Age distribution of kidney stones

I calcoli papillari (gruppo 1) si alternano nella loro frequenza come pure i calcoli misti (gruppi 4 e 9). La nuova tipologia riscontrata tra i pazienti lucani (gruppo 4*) è più frequente nei giovani < 30 anni e tra le ultrasessantenni.

Ogni campione è associato ad una persona residente in uno dei 131 comuni della Basilicata. Per individuare eventuali zone di maggiore produzione di calcoli renali, sono stati cartografati gli 80 campioni assimilando il punto di campionamento con la residenza dei rispettivi “produttori”.

Senza fare alcuna distinzione di tipologia di calcolo, si può osservare che la distribuzione dei campioni copre quasi tutta la regione (fig. 3.51).

I calcoli contenenti prevalentemente ossalati hanno una distribuzione ampia, il gruppo della struvite e quello dei calcoli di acido urico risultano, invece, concentrati in un’area relativamente ristretta della regione.

Considerando la distribuzione geografica dei calcoli di acido urico si osserva che essi sono concentrati esclusivamente nel nord della regione (vedi scheda in appendice).

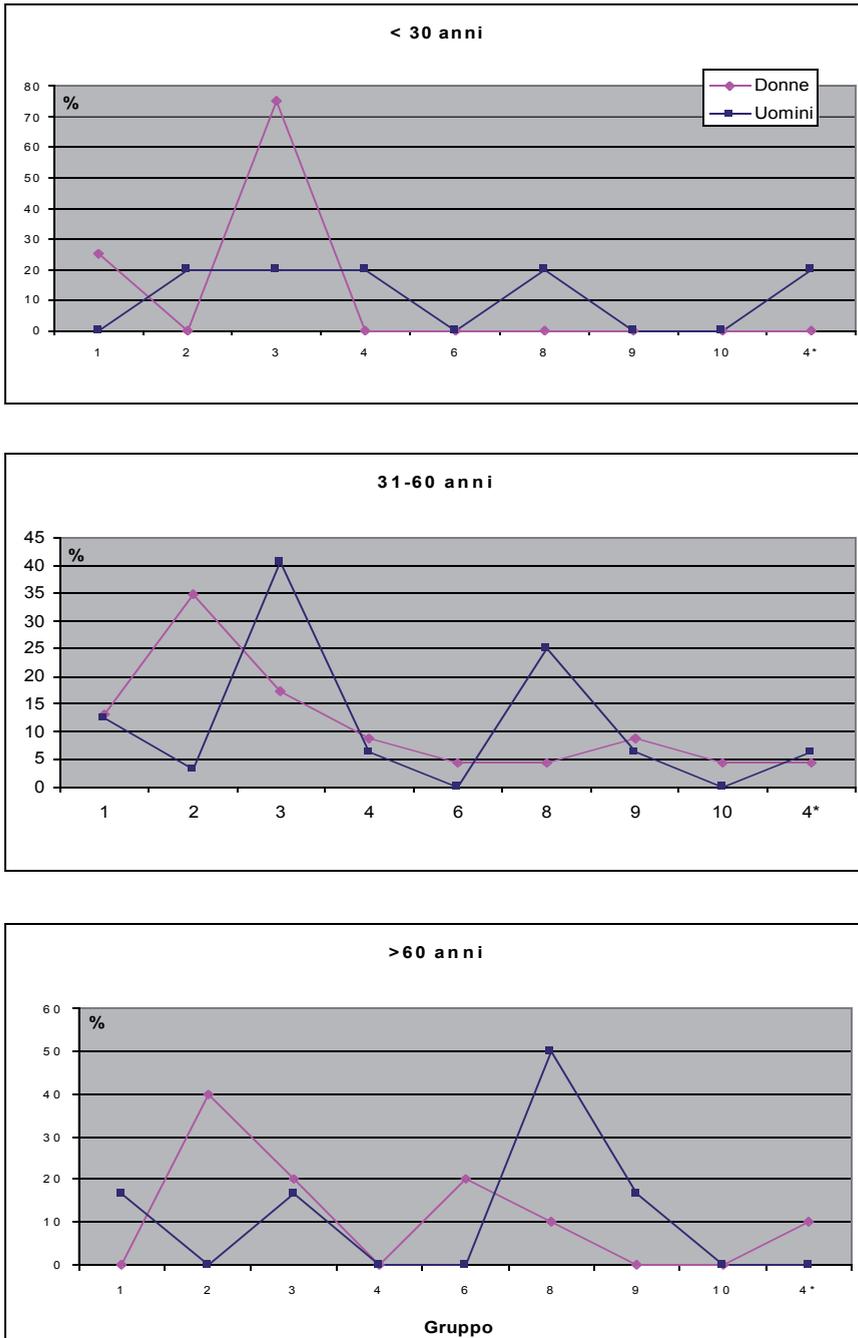


Figura 3.50 Distribuzione per genere ed età degli otto gruppi di calcoli
Gender and age distribution of the 8 group of kidney stones

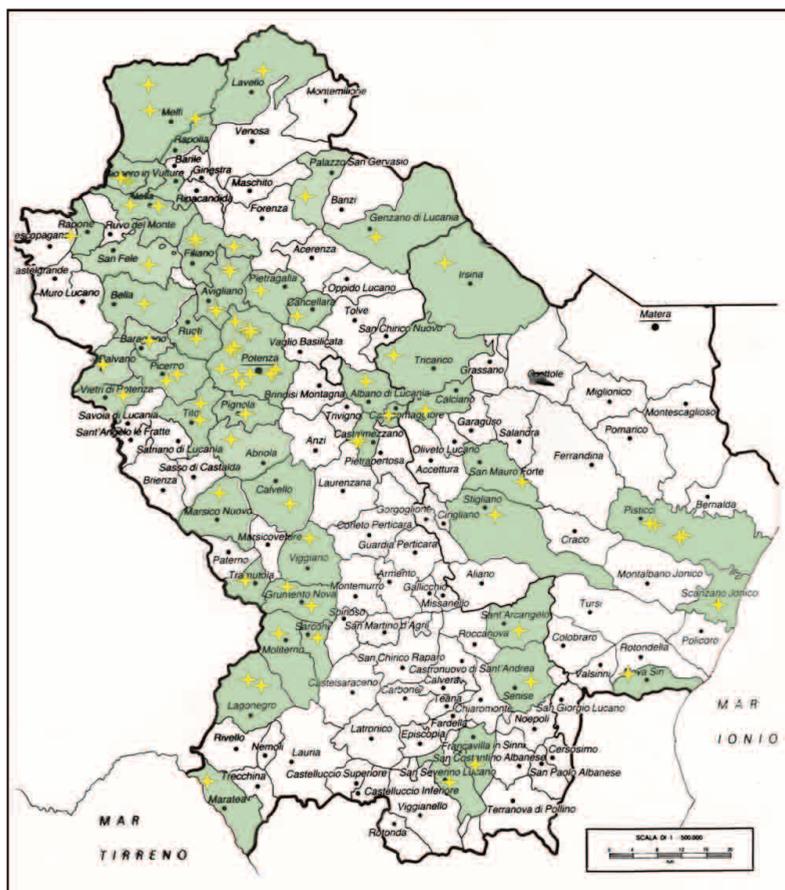


Figura 3.51 Distribuzione geografica dei calcoli analizzati
Geographical distribution of analyzed kidney stones

3.4 DISCUSSIONE

Al termine della fase di caratterizzazione dei calcoli renali raccolti, una serie di importanti risultati sono emersi.

Il 56% dei soggetti coinvolti nello studio ha prodotto un singolo calcolo espulso intero o in frammenti, mentre il restante 44% ha espulso più calcoli contemporaneamente.

Questo può essere il segnale che il processo di biomineralizzazione non è unico ed esclusivo, ma possono avvenire in contemporanea più mineralizzazioni nel rene a partire dalla stessa soluzione urinaria. Anche ammettendo che i diversi esemplari si siano generati in tempi diversi, la loro genesi non interferisce con quella degli altri calcoli già formati.

Il 56% dei calcoli sono prodotti da uomini, confermando la loro maggiore predisposizione.

Le dimensioni sono variabili ma associate alla tipologia di calcolo. La loro struttura porosa, priva di organizzazione e la velocità di crescita dei cristalli può spiegare perché i calcoli di struvite (e di fosfati in generale) raggiungono le più grandi dimensioni. A seguire ritroviamo i calcoli di acido urico.

I più piccoli sono quelli del gruppo 3, composti prevalentemente da weddellite che, a causa della morfologia dei cristalli, non riesce a generare aggregati molto grandi; è frequente che parte di questi non rimanga attaccato al corpo centrale del calcolo molto a lungo. Solo in presenza di idrossapatite tra i cristalli, che funge da legante, possiamo ottenere calcoli di weddellite di maggiori dimensioni.

Le osservazioni delle caratteristiche esterne dei calcoli risultano accomunate con la tipologia di calcolo e nello stesso tempo riflettono la loro struttura interna.

Questo è un importante assunto in quanto suggerisce che i caratteri esterni di un calcolo sono determinati dallo stesso meccanismo di formazione e sviluppo del biominerale in quanto in un ambiente “chiuso” come quello di un rene non esistono forze meccaniche esterne che possano modellare la forma esterna del calcolo.

Questo è molto evidente in calcoli di tipo 1 e 2 di ossalato di calcio monoidrato, meno per quelli di acido urico dove a parità di forma esterna possiamo avere strutture compatte o disordinate.

Importante sottolineare la differenziazione dei calcoli misti che rappresentano la testimonianza di cambiamenti radicali di composizione della soluzione urinaria durante la crescita del cristallo, quindi utile studiarli sia per capire il processo genetico del campione ma anche per stabilire una corretta procedura di trattamento, sia che si tratti di litotrissia (le diverse fasi mineralogiche reagiscono in modo differente al bombardamento) sia di trattamento dietetico e/o farmacologico.

L'individuazione di una nuova tipologia di calcoli misti, composti da weddellite e struvite (denominato gruppo 4*), conferma la necessità di una costante implementazione della classificazione dei calcoli renali.

L'analisi qualitativa dei diffrattogrammi rivela che i profili diffrattometrici di biominerali come gli ossalati riscontrati nei calcoli sono comparabili con quelli dei corrispondenti minerali formati in ambiente geologico, i cui profili sono stati utilizzati per l'interpretazione e per il confronto dei parametri di cella. Questo può significare che il ruolo svolto dalla parte biologica nella cristallizzazione di questo tipo di biominerali è molto ridotto, infatti solo lievi differenze, se pur statisticamente significative, sono state riscontrate dal confronto tra il valore

medio calcolato e quello di riferimento.

Alla luce della differenziazione di due tipologie di calcoli di whewellite (papillari e di cavità) sono stati confrontati i parametri di cella della whewellite nelle due tipologie di calcolo (tab. 3.9). E' emerso che la whewellite che costituisce un calcolo papillare ha dimensioni più piccole rispetto ad uno stesso cristallo accresciutosi in cavità renale. La differenza è in media significativa al 95%.

Tabella 3.9 Valori medi dei parametri di cella della whewellite in due diverse tipologie di calcoli
Average values of whewellite unit cell dimension in two kidney stones type

FASE	SISTEMA	GRUPPO	a (Å)	b (Å)	c (Å)	α (°)	β (°)	γ (°)	Volume cella (Å ³)	
Whewellite	monoclinico	P2 1/c	6.3	14.6	10.1	90.0	109.5	90.0	874.9	
			valore medio	6.2	14.5	9.9	90.0	109.6	90.0	853.5
in calcoli papillari (n.9)			deviazione standard	0.1	0.1	0.3	0.0	0.3	0.0	16.6
			valore medio	6.4	14.6	10.1	90.0	110.2	90.0	880.9
in calcoli di cavità (n.15)			deviazione standard	0.2	0.1	0.1	0.0	1.6	0.0	14.7

Un minor tempo di contatto con la soluzione urinaria potrebbe essere alla base delle ridotte dimensioni di questi cristalli.

Le dimensioni dei cristalli sono normalmente dipendenti dal bilancio tra il livello di sovrassaturazione dell'urina e la concentrazione degli inibitori della cristallizzazione, ma frequenti periodi di eccessiva sovrassaturazione possono superare anche i poteri protettivi degli inibitori. Questo comporta il rischio della formazione di cristalli anomali molto grandi e sviluppo di maggiori aggregati che, se trattenuti nel tratto urinario e nei reni, possono diventare nuclei di formazione di altri calcoli [Robertson et al. 1975; Robertson & Peacock 1972].

Facendo convergere le informazioni sulla trasformazione della whewellite in whewellite, risulta che solo con tecniche integrate di microscopia e diffrazione è possibile identificare questo fenomeno che si sviluppa a partire dall'interno dei cristalli di whewellite per poi svilupparsi verso l'esterno, dove la superficie della whewellite viene conservata.

Dall'analisi dei parametri di cella delle whewelliti si osserva che queste presentano volumi della cella più grandi se sono whewelliti coinvolte nel processo di trasformazione in whewelliti. La differenza riscontrata è significativa al 95%. In presenza di più grandi cristalli di whewellite, quindi, la trasformazione in whewellite è più favorita.

Gli aggregati sferici sono ampiamente presenti tra i minerali e sono stati molto studiati [Chernov 1971; Punin 1981; Keith & Padden 1963]. E' stato possibile utilizzare queste conoscenze per applicarle alla crescita dei calcoli renali.

Come si osserva, infatti, i calcoli di whewellite presentano al loro interno più nuclei di accrescimento. Questa forma di aggregazione sferica è quella più adatta in condizioni di crescita non stazionaria (non in equilibrio), come quella di una

soluzione urinaria accompagnate, poi, da periodi di dissoluzione consentendo così la fusione di questi aggregati.

Il calcolo, quindi risulta essere il risultato di più processi di nucleazione e crescita che si sviluppano simultaneamente. La crescita dei cristalli procede così autonomamente finendo, poi, per ostacolarsi a vicenda.

Questo tipo di struttura conferisce ai calcoli di whewellite una durezza tale da renderli più difficili da frammentare, infatti è elevato il numero di casi di recidive tra le persone che hanno prodotto calcoli di questo tipo. La grave conseguenza di una frammentazione non correttamente eseguita si traduce in una impossibilità di espellere spontaneamente i frammenti (in quanto troppo grandi) che, rimanendo all'interno delle cavità renali, fungono da substrato per nuove cristallizzazioni.

La civilizzazione ha cambiato la tipologia fisico-chimica dei calcoli renali. Prima della rivoluzione industriale in occidente e nei paesi in via di sviluppo una forte percentuale di calcoli era legata alle infezioni delle basse vie urinarie (calcoli di struvite).

Nei paesi industrializzati nei tempi moderni questa tipologia di calcoli è diventata più rara. Si registrano, invece, in prevalenza calcoli renali costituiti soprattutto da ossalato di calcio, infatti la maggior parte degli studi scientifici concentrano l'attenzione su questa tipologia di calcoli.

Anche in Italia gli unici studi sui calcoli renali eseguiti si sono limitati ad analizzare parzialmente le tipologie di calcoli renali presenti sul territorio e limitando, per genere e/o per età, la popolazione investigata.

Inoltre, pur constatando l'importanza di una *stone analysis* di dettaglio, sono ancora molti gli studi che si limitano a classificare i calcoli in sole quattro categorie sulla base del loro componente principale.

Perciò per avere una valutazione comparativa della percentuale di prevalenza dei calcoli lucani sulla base dello stesso grado di dettaglio applicato, ho dovuto confrontare i risultati con la prevalenza riscontrata a seguito di studi di caratterizzazione dei calcoli in altre comunità, come quella delle isole delle Baleari [Grases et al. 2002] e quella francese [Daudon et al. 2004], al fine di individuare eventuali similitudini e/o differenze correlabili a diverse abitudini alimentari, nel caso della comunità francese, e a diverse influenze ambientali, nel caso della comunità delle isole Baleari.

Sono state riportate anche le percentuali di prevalenza di calcoli di altre realtà mondiali molto diverse ma che rappresentano alcuni degli studi più recenti in materia.

Dal confronto è emerso che tra le due diverse comunità considerate, non si osservano differenze e le percentuali di prevalenza dei vari tipi di calcoli

sono uguali. Rispetto ai risultati ottenuti in Basilicata si osservano, invece, delle differenze.

Se i calcoli più frequenti risultano essere sempre quelli composti da ossalato in calcio, nella comunità lucana si registra un più alto numero di calcoli di acido urico a discapito di quelli composti da fosfati di calcio (fig. 3.55). L'abbondante presenza di acido urico quale componente prevalente nei calcoli di pazienti lucani, si evidenzia anche dall'alta percentuale di calcoli misti formati dalla combinazione di acido urico ed ossalati di calcio.

Questa maggiore abbondanza non è inusuale per l'Italia [Borghetti et al. 1990; Pavone-Macaluso & Miano 1979] e può essere collegata ad alcuni particolari fattori di rischio legati prima di tutto alle abitudini alimentari come un eccesso di proteine ed un consumo frequente di alcool [Robertson et al. 1979; Zechner et al. 1982; Robertson 1984].

I fattori di rischio per lo sviluppo di calcoli di acido urico sono da ricercarsi innanzitutto nel sito di biomineralizzazione che deve avere: delle cavità renali con bassa efficacia urodinamica per consentire la cristallizzazione, una sovrassaturazione rispetto all'acido urico (iperuricuria) e valori di pH < 5.5.

Questi parametri chimici critici sono strettamente legati all'eccessivo consumo di alimenti ricchi in purina (carne, salumi, crostacei, pesce e legumi) e scarso apporto nella dieta di succo di agrumi, bevande gassate e vegetali. Anche la caffeina e l'alcool possono aumentare la concentrazione di acido urico nelle urine.

I bassi valori di pH sono influenzati anche dalla qualità delle acque ingerite. Se c'è un consumo frequente di acque poco dure e debolmente bicarbonatiche non si favorisce l'alcalinizzazione delle urine.

Sulla base dei risultati dello studio statistico illustrato nel capitolo 2 di questa tesi dottorale, era stata individuata una correlazione positiva tra consumo di acque dure (durezza >22.5°f) e prevalenza di nefrolitiasi in Basilicata (*Odds ratio* >1.27; $p < 0.001$), indicando che un consumo di acque ricche in calcio aggrava lo sviluppo di calcolosi.

Questa evidenza deve essere rivalutata con l'osservazione che una generalizzazione dei fattori di rischio della patologia non è consentita ma si dovranno trattare le singole tipologie di calcolo come patologie assistenti.

E' stato osservato che i calcoli di acido urico sono concentrati esclusivamente nel nord della regione. Sicuramente le abitudini alimentari che caratterizzano tutto l'arco appenninico, con un elevato consumo di carni rosse, predispone maggiormente allo sviluppo di questa tipologia di calcoli, ma è pur vero che non lungo tutto l'arco appenninico è possibile imbattersi con gli stessi risultati in

Gruppi e sottogruppi	BASILICATA (Sud Italia)	Parma (Nord Italia)	Isole Baleari (Spagna)	Francia	Isole Baleari (Spagna)	North Jordania	sud India	nord India	Sudan
n. campioni	80	(Borghesi et al., 1990)	(Garcias et al., 2002)	(Ouedan et al., 2004)	(Garcias et al., 1993)	(Alkhouf, 2007)	(Ghijya et al., 2007)	(Saptha et al., 2005)	(Balla et al., 1998)
1 Whewellite papillare	11%		12,90%		314	30	57	1050	80
2 Whewellite di cavità	19%		16,40%	43,70%	25,10%			74%	
3 Weddellite	20%		33,80%	21,50%	14,10%			19%	
4 OSSALI DI CALCIO	59%	27,40%	63,10%	65,20%	39,20%	26,70%	45%	95%	65%
5 Weddellite + idrossapatite	6%		11,20%		27%		45%		
6 Ictrosapatite	0%		7,10%	12,7%				1,80%	1,80%
7 Struvite	4%		4,10%	2,2%			2,50%	1,42%	1,42%
8 Brucite	0%		0,60%	1,1%					
9 FOSFATI DI CALCIO	4%	1%	11,80%	16%	21%		2,50%	3,22%	15,80%
10 ACIDO URICO	18%	26,50%	8,20%	8,70%	10,80%	6,70%	7,50%	0,95%	11,80%
11 Whewellite + Acido Urico	6%	8%	2,60%		1,20%	10%			
12 CISTINA	1%	0,90%	1,10%	1,30%					0%
13 Altro (diverse associazioni o altri calcoli poco frequenti)	6,00%	36,30%	1,90%		1,20%	56,60%		2,76%	7,40%

Figura 3.52 Confronto delle percentuali di prevalenza dei calcoli in Basilicata con altri studi
Percentage comparison between kidney stones prevalence in Basilicata and in previous studies

termini di prevalenza di calcoli di acido urico a parità di dieta.

Altri fattori devono entrare in gioco per spiegare questa distribuzione.

Riguardo alla durezza delle acque, i comuni con prevalenza di calcoli di acido urico hanno acque potabili poco dure e ricadono in zone dove il contenuto di carbonati nel suolo, come da indicazioni della carta dei carbonati, è inferiore al 10%.

Tutti i soggetti affetti da calcoli di acido urico hanno dichiarato di fare uso domestico delle acque comunali e di consumare diverse tipologie di acque imbottigliate.

Le etichette di tutte le acque indicate sono state raccolte e confrontate.

Le acque presentano tutte un basso contenuto in bicarbonati (150-200mg/L) ed una bassa durezza (2-7°f).

Queste caratteristiche non consentono ai calcoli di acido urico di dissolversi perché non incontrano un ambiente alcalino.

Un altro fattore di rischio legato allo sviluppo di calcoli, in particolare, di acido urico è il clima inteso come temperatura. Come detto in precedenza, una relazione tra basse temperature e sviluppo di calcoli è possibile in quanto le basse temperature, non invogliando ad un consumo frequente di liquidi in genere, portano i soggetti ad avere un più basso volume urinario.

La maggiore sovrassaturazione causata da un volume urinario ridotto è, quindi, da considerarsi una causa anche dei calcoli di acido urico che si distribuiscono in zone con basse temperature medie annue.

A queste zone corrisponde anche una radiazione globale annua più bassa rispetto al resto della regione. E' noto che una maggiore esposizione alle radiazioni solari stimola la produzione di vitamina D che, a sua volta, favorisce l'assorbimento di calcio nell'organismo. Il calcio è il catione più abbondantemente coinvolto nei processi di cristallizzazione dei calcoli specie per quelli di ossalato e fosfato.

Nelle zone a maggiore prevalenza di calcoli di acido urico corrisponde in Basilicata una deficienza di quelli composti da fosfato di calcio.

Le due tipologie di calcoli possono considerarsi antagoniste in quanto presentano fattori etiologici molto differenti o addirittura opposti.

In futuro, una maggiore comprensione dei fattori che controllano la produzione di calcoli di acido urico può avere anche un'altra valenza considerato che l'acido urico ha anche un ruolo nello sviluppo della litiasi ossalocalcica.

La formazione di un nucleo eterogeneo sopra il quale i cristalli di ossalato di calcio si possono accrescere e sviluppare, rappresenta il primo e più importante stadio della litiasi ossalocalcica.

La maggiore capacità dell'acido urico di fungere da nucleante eterogeneo dell'ossalato di calcio, viene attribuita da molti studi alle caratteristiche cristallografiche simili tra cristalli di acido urico e di ossalato di calcio monoidrato [Grases et al. 1991].

3.5 BIBLIOGRAFIA

- Abboud IA (2007). Mineralogy and chemistry of urinary stones: patients from North Jordan. *Environ Geochem Health* 30: 445-463.
- Anderson DA (1972). Environmental factors in the aetiology of urolithiasis. *Proceedings of international symposium on renal stone research Basel:Karger*,130-144.
- Atakan IH, Kaplan M, Seren Gulay, Aktoz T, Gul 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.
- Balla AA, Salah AM, Khattab AHH, Kombal A, Bongartz D, Hoppe B & Hesse A (1998). Mineral composition of renal stones from the Sudan. *Urol Int* 61: 154-156.
- Bellanato J, Delatte LC, Hidalgo A & Santos M (1973). Application of infrared spectroscopy to the study of renal stones. In: Dellatte LC, Rapado A, Hodgkinson A (eds.) *Urinary Calculi: Recent Advances in aetology, stone structure and treatment: proceeding of the International Symposium on Renal Stone Research*. S. Karger AG, Basel, Switzerland, pp. 237-246.
- Borghi L, Ferreti PP, Elia GF, Amato F, Melloni E, Traspasi MR & Novarini A (1990). Epidemiological study of urinary tract stones in a Northern Italian City. *Br J Urol* 65, 231-235.
- Breslau NA, Brinkley L & Hill KD (1988). Relationship of animal protein-rich diet to kidney stone formation and calcium metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 66: 140-146.
- Brinkley LJ, Gregory J & Pak CYC (1990). A further study of oxalate bioavailability in foods. *J Urol*. 144: 94-96.
- Chai W, Liebman M, Kynast-Gales S & Massey L (2004). Oxalate absorption and endogenous oxalate synthesis from ascorbate in calcium oxalate stone formers and non-stone formers (abstract). *American Journal of Kidney Diseases: The official journal of the National Kidney Foundation*, 44, 1060-1069.
- Chernov A (1971). Theory of stability of faceted forms of crystals. *Kristallografiya* 16 (4), 842-863.
- Colombi P, Bontempi E, Valetti S, Alessandri I, Volta V, Massardi A & Depero LE (2003). In una dimora storica del XVI secolo, indagine di microdiffrazione dei raggi x con rivelatore bidimensionale in *Atti, III Convegno, Restauro e conservazione dei beni culturali: materiali e tecniche*, ed. Mascolo G. Dipartimento di Meccanica, Strutture, Ambiente e Territorio, Università degli Studi di Cassino.

- Costa-Bauzá A, Perello J, Isern B & Grases F (2005). An experimental study on residual lithiasis after shock wave lithotripsy. *Urol. Res.* 33: 51-56.
- Daudon M, Bader CA & Jungers P (1993). Urinary calculi: review of classification methods and correlations with etiology. *Scanning Microsc* 7:1081–1104
- Daudon M, Dore JC, Jungers P & Lacourt B (2004). Changes in stone composition according to age and gender of patients: a multivariate epidemiological approach. *Urological research* 32(3): 241-247.
- De Mendonca OGC, Martini LA & Baxmann AC (2003). Effects of an oxalate load on urinary excretion in calcium stone formers. *J Renal Nutr* 13: 39-46.
- Drach GW (1978). Urinary lithiasis. In: Harrison JH, Gittes RF, Perlmutter AD, Stamey TA, Walsh PC (eds). *Compbell's urology*, Vol.1. Eastbourne: WBSaunders, 779- 878.
- Drach GW (2000). Secondary and miscellaneous urolithiasis. Medications, urinary diversions, and foreign bodies. *Urol Clin North Am* 27:269–273.
- Ferrari P & Bonny O (2004). Diagnostik und prevention des harnsauresteins. *Ther Umsch* 61: 571-574.
- Giannossi ML, Monelli G & Summa V (2009). The mineralogy and internal structure of kidney stones. *NDT Plus* 2009 2: 418-419.
- Gibson RI (1974). Descriptive human pathological mineralogy. *Am. Mineral.* 59: 1177-1182.
- Girija EK, Narayana Kalkura S, Sivaraman PB & Yokogawa Y (2007). Mineralogical composition of urinary calculi from southern India. *J Scientific & industrial Research* 66: 632-639.
- Goldfarb S (1988). Dietary factors in the pathogenesis and prophylaxis of calcium nephrolithiasis. *Kidney Int* 34: 544-555.
- Goldfarb s (1990). The role of diet in the pathogenesis and therapy of nephrolithiasis. *Endocrinol Metab Clin N Am* 19: 805-820.
- Grases F, Costa-Bauzá A & García-Ferragut L (1998). Biopathological crystallization: a general view about the mechanisms of renal stone formation. *Adv Colloid Interface Sci* 74: 169-194.
- Grases F, Costa-Bauzá A, March JG & Masárová L (1991). Glycosaminoglycans, uric acid and calcium oxalate urolithiasis. *Urol Res* 19: 375-380.
- Grases F, Costa-Bauzá A, Ramis M, Montesinos V & Conte A (2002). Simple classification of renal calculi closely related to their micromorphology and etiology. *Clin Chim Acta* 322, 29-36.
- Hess B (1996). Low calcium diet in hypercalciuric calcium nephrolithiasis: first do no harm. *Scanning Microsc* 10: 547-554.

- Hodgkinson A (1971). A combined qualitative and quantitative procedure for the chemical analysis of urinary calculi. *J Clin Pathol* 24: 147-151.
- Holland TJB & Redfern SAT (1997). Unit cell refinement from powder diffraction data: the use of regression diagnostics. *Mineralogical Magazine* 61: 65-77.
- Holmes RP & Kennedy M (2000). Estimation of the oxalate content of foods and daily intake. *Kidney Int* 57: 1662-1667.
- Holmes RP, Goodman HO & Assimis DG (2001). Contribution of dietary oxalate to urinary oxalate excretion. *Kidney Int* 59: 270-276.
- ICDD (2005). Powder Diffraction File. International Centre for diffraction Data, edited by WF McClune, Newtown Square, PA: 19073-3272.
- Jaeger P (1996). Genetic versus environmental factors in renal stone disease. *Curr Opin Nephrol Hyperten.* 5: 342-346.
- Keith HD & Padden F J (1963). A phenomenological theory of spherulitic crystallization. *J. Appl. Phys.* 34: 2409-2421.
- Krumm S (1997). WinFit: a computer programm. www.Geol.uni-erlangen.de/html/software/winsoft.html
- Lonsdale K, Sutor DJ & Wooley S (1968). Composition of urinary calculi by X-ray diffraction. Collected data from various localities. I. Norwich (England) and District. *Br. J. Urol.* 40: 33-36.
- Marshall RW, Cochran M & Hodgkinson A. (1972). Relationships between calcium and oxalic acid intake in the diet and their excretion in the urine of normal and renal-stone-forming subjects. *Clin Sci* 43: 91-99.
- Massey Lk (2003). Dietary influences on urinary oxalate and risk of kidney stones. *Front Biosci* 8: 584-594.
- Nakai H, Yanagawa M, Kameda K, Ogura Y & Kawamura J (1996). Transformation of calcium oxalate dihydrate crystals in solution: why is not calcium oxalate dihydrate detected in urinary calculi? *Proc VIII Int Symp Urol.* Dallas.
- Orlando MTD, Kuplich L, de Souza DO, Belich H, Depianti JB, Orlando CGP, Medeiros EF, da Cruz PCM, Martinez LG, Correa HPS & Ortiz R (2008). Study of calcium oxalate monohydrate of kidney stones by X-ray diffraction. *Powder Diffraction Suppl.* 23: S59-S64.
- Park SJ & Coe FL (1994). A increasing number of calcium oxalate stone events worsens treatment out com. *Kidney International* 45: 1722-1730.
- Pavone-Macaluso M & Miano L (1979). Epidemiology of urolithiasis in Italy – XVII Congres de la Societ  Internationale d’Urologie. Pris, Joly pp : 113-137
- Punin Yu O (1981). Splitting of crystals. *Proceeding of the Russian*

Mineralogical Society 6: 667-686.

- Rieu P (2005). Lithiases d'infection. *Ann Urol (Paris)* 39: 16-29.
- Robertson WC (1984) Urinary tract calculi. In: *Metabolic bone and stone disease* (Nordin BEC ed) pp 236-271, Churchill Livingstone, New York.
- Robertson WG & Peacock M (1972). Calcium oxalate crystalluria and inhibitors of crystallization in recurrent renal stone-formers. *Clin Sci* 43:499-506.
- Robertson WG, Peacock M, Marshall RW, Speed R & Nordin BEC (1975). Seasonal variations in the composition of urine in relation to calcium stone-formation. *Clinical Science and Molecular Medicine* 49: 597-602.
- Robertson WC, Heiburn PJ & Peacock M (1979). The effect of high animal protein intake on the risk of calcium stone-formation in the urinary tract. *Clin Sci.* 57: 285-588.
- Robertson WG & Peacock M (1982). The pattern of urinary stone disease in Leeds and in the United Kingdom in relation to animal protein intake during the period 1960-1980. *Urology International* 73: 394-399.
- Schlesinger N (2005). Dietary factors and hyperuricaemia. *Curr Pharm Des* 11: 4133-4138.
- Skrtic D, Fürdi-Nilhofer H & Markovic M (1987). Precipitation of calcium oxalates from high ionic strength solutions. V. The influence of precipitation conditions and some additives on the nucleating phase. *J Cryst Growth* 80: 113-120.
- Sokol E, Nigmatulina E, Maksimova N & Chiglintsev A (2005). $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ spherulites in human kidney stones: morphology, chemical composition, and growth regime. *Eur. J. Mineral.* 17: 285-295.
- Spector M, Garden NM & Rous SN (1978). Ultrastructure and pathogenesis of human calculi. *Br. J. Urol.* 50: 12-15.
- Stitchantrakul W, Sopassathit W, Prapaipanich S & Domrongkitchaiporn S (2004). *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 35:1028-1033
- Takasaki BH (1971). An observation on the analysis of urinary calculi by infrared spectroscopy. *Calcif. Tissue Res.* 7: 232-240.
- Westbury EJ & Omenogor P (1970). A quantitative approach to the analysis of renal calculi. *J. Med Lab Technol.* 27: 462-747.
- Williams CP, Child DF, Hudson PR, Davies GK, John R, Anandaram PS & De Bolla AR (2001). Why oral calcium supplements may reduce renal stone disease: report of pilot study. *J. Clin. Pathol.* 54, 54-62.
- Zechner O, Pilliger II & Scheiber V (1982). Idiopathic uric acid lithiasis – epidemiologic and metabolic aspects. *J. Urol.* 128: 1219-1223.

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
	TOTALE	80	48

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 HNO₃ (70%) e 0.5 ml HClO₃. 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 μ 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%
1	26.778	0.207	0.293	0.227	0.021	0.622	0.084	0.068	0.046
σ	± 1.747	± 0.037	± 0.036	± 0.079	± 0.006	± 0.161	± 0.048	± 0.006	± 0.004
2	24.682	0.715	0.814	0.222	0.059	0.630	0.088	0.066	0.038
σ	± 1.724	± 0.535	± 0.984	± 0.111	± 0.029	± 0.145	± 0.072	± 0.012	± 0.006
3	23.524	0.322	0.611	0.269	0.119	0.996	0.158	0.082	0.051
σ	± 4.081	± 0.161	± 0.389	± 0.072	± 0.065	± 0.333	± 0.040	± 0.013	± 0.013
4	23.558	1.083	1.104	0.215	0.567	0.593	0.151	0.083	0.026
σ	± 1.907	± 0.009	± 0.054	± 0.059	± 0.352	± 0.015	± 0.078	± 0.040	± 0.000
4*	21.919	0.738	1.552	0.382	0.513	0.772	0.181	0.087	0.052
σ	± 7.987	± 0.808	± 0.138	± 0.001	± 0.525	± 0.078	± 0.016	± 0.039	± 0.032
6	16.109	2.145	9.629	0.421	0.953	0.338	0.205	0.039	0.033
σ	± 3.927	± 0.412	± 1.272	± 0.349	± 0.364	± 0.117	± 0.273	± 0.016	± 0.021
8	2.645	1.374	0.051	0.216	0.201	0.635	0.063	0.005	0.019
σ	± 1.951	± 0.404	± 0.023	± 0.104	± 0.051	± 0.102	± 0.082	± 0.002	± 0.009
9	16.523	1.163	0.145	0.265	0.154	0.530	0.194	0.047	0.019
σ	± 2.129	± 0.215	± 0.072	± 0.156	± 0.039	± 0.246	± 0.187	± 0.014	± 0.003
10	6.190	0.144	0.218	0.197	1.405	0.220	0.000	0.008	0.011
σ	-	-	-	-	-	-	-	-	-

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).

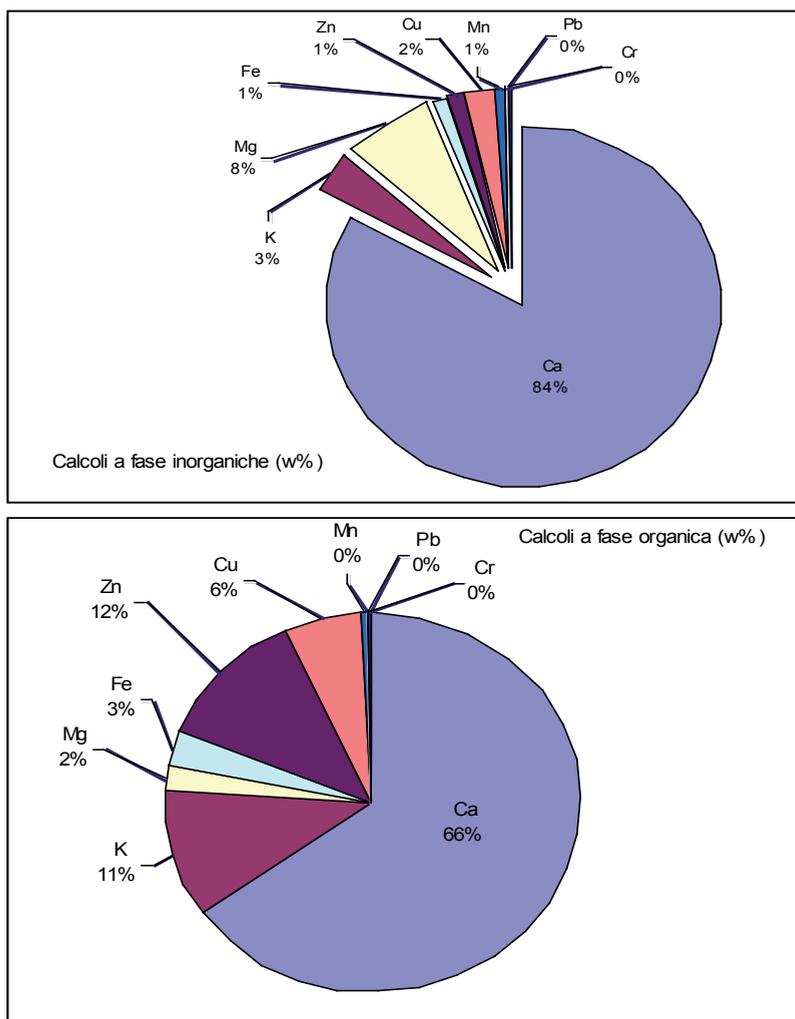


Figura 4.1 Distribuzione media degli elementi dosati tra calcoli a componente organica ed inorganica
Average element distribution in inorganic and organic kidney stones

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).

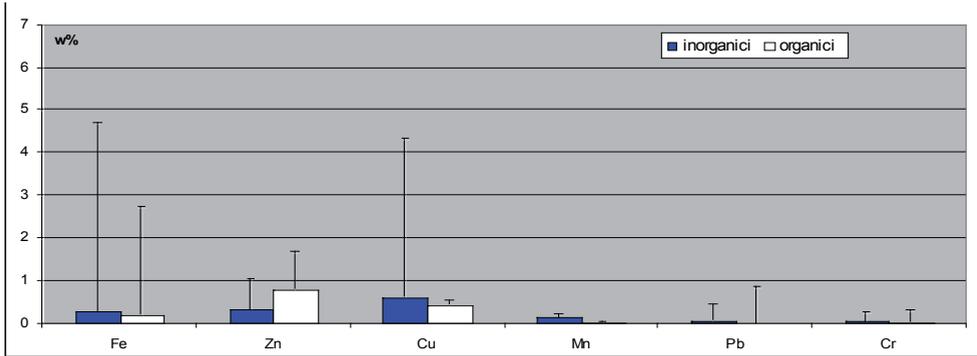


Figura 4.2 Confronto tra il contenuto in elementi in tracce tra i calcoli a componente inorganica ed organica

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

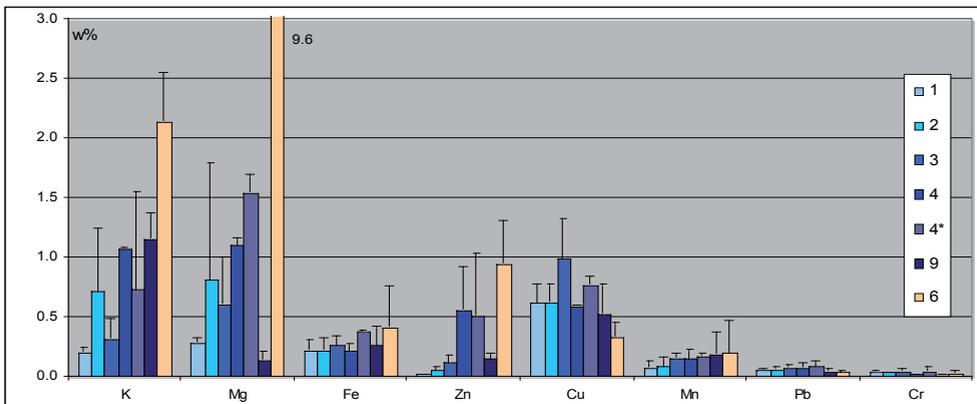


Figura 4.3 Confronto tra il contenuto in elementi in tracce tra i diversi tipi di calcoli a componente inorganica

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.

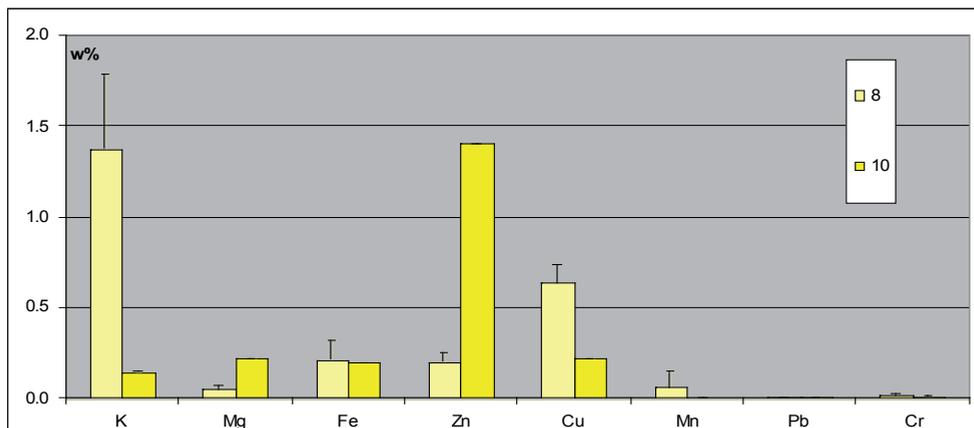


Figura 4.4 Confronto tra il contenuto in elementi in tracce tra i diversi tipi di calcoli a componente organica

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).

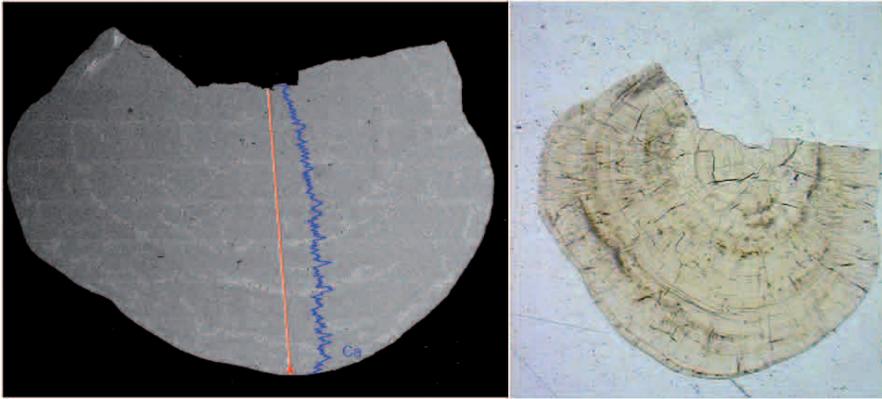
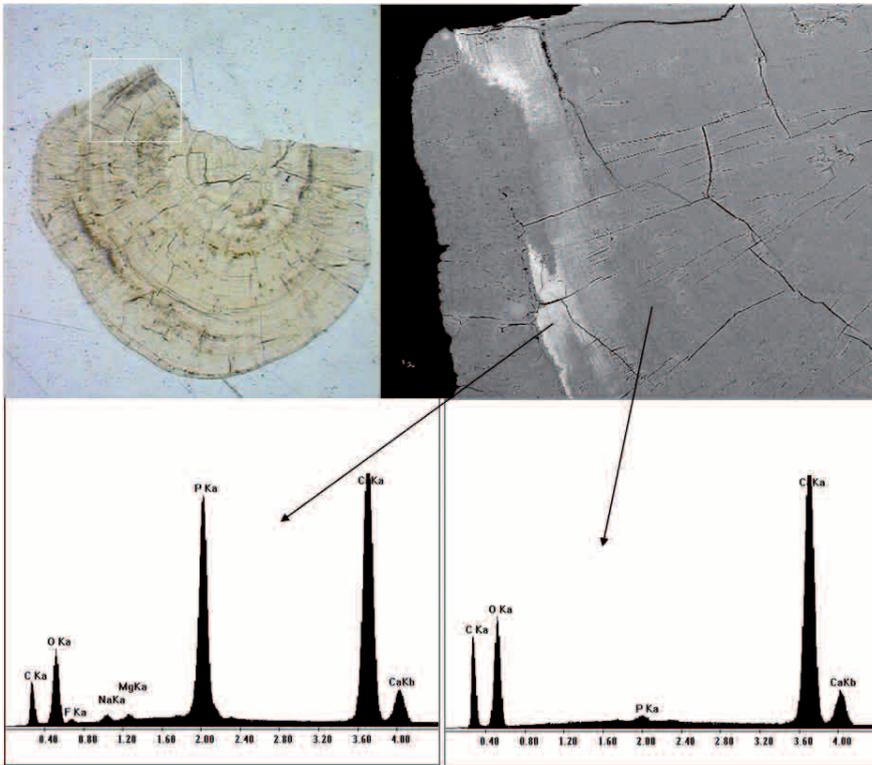


Figura 4.5 Andamento della concentrazione di calcio in un calcolo di whewellite (#54)



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).

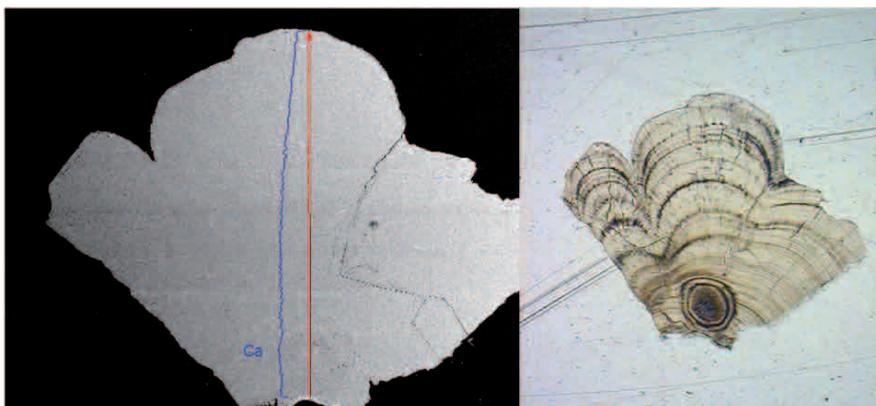


Figura 4.7 Andamento della concentrazione di calcio in un calcolo di whewellite papillare (#47)
Calcium concentration pattern in whewellite papillar kidney stone

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).

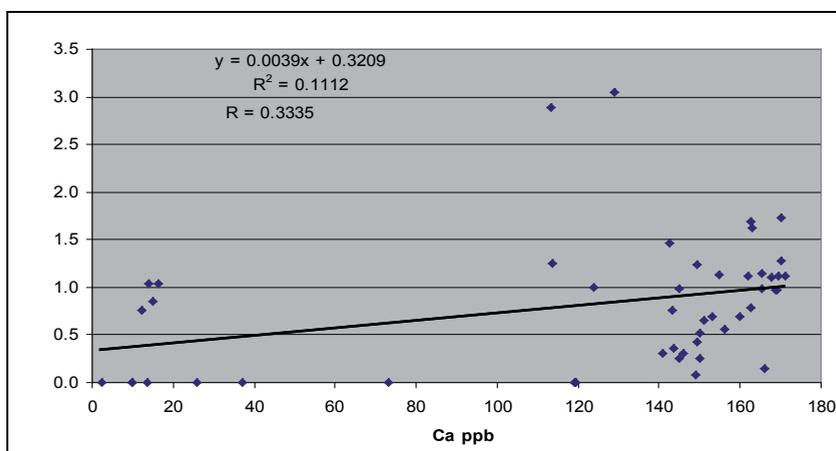


Figura 4.8 Contenuto medio di calcio vs. manganese in correlazione lineare
Average calcium content vs. manganese content in linear correlation

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).

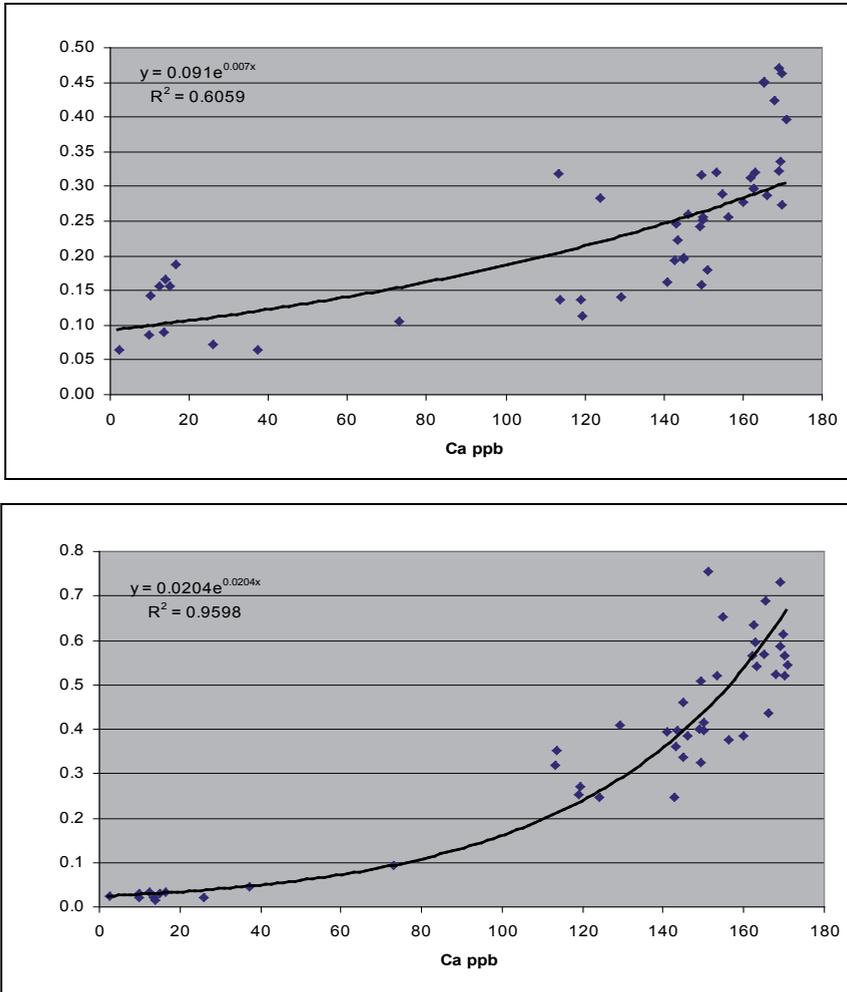


Figura 4.9 Contenuto medio di calcio vs. cromo e vs. piombo in correlazione esponenziale
Average calcium content vs. chromium and lead content in exponential correlation

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.

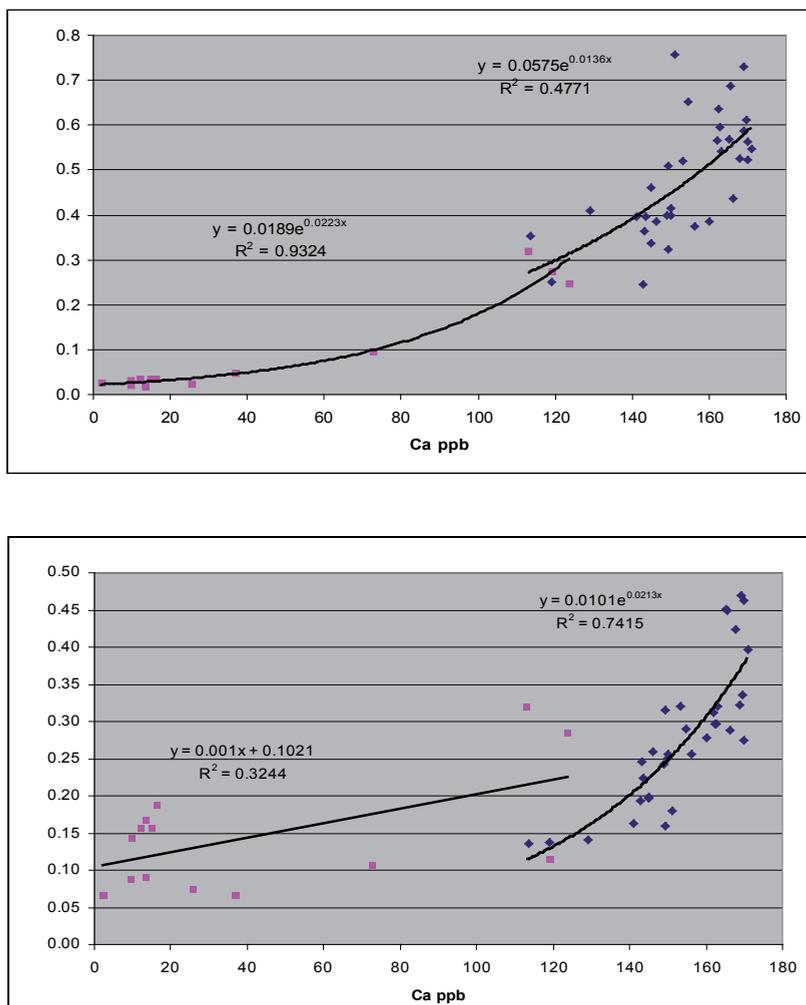


Figura 4.10 Contenuto medio di calcio vs. cromo e vs. piombo in correlazione esponenziale nei calcoli a componente inorganica (blu) ed organica (fucsia)

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.

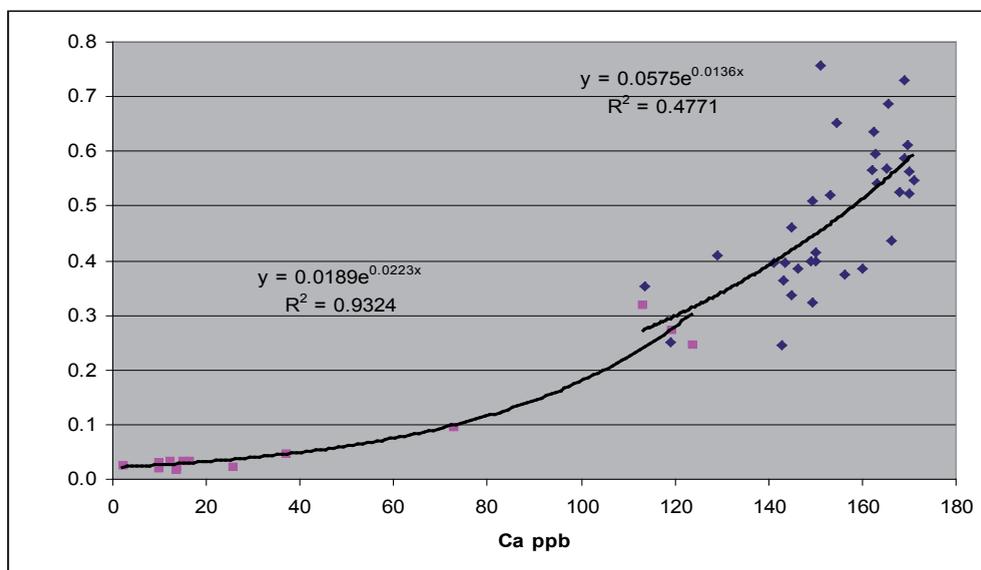


Figura 4.11 Confronto tra le concentrazioni medie di elementi nei due ossalati
Comparison between average element concentrations in oxalate kidney stones

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.

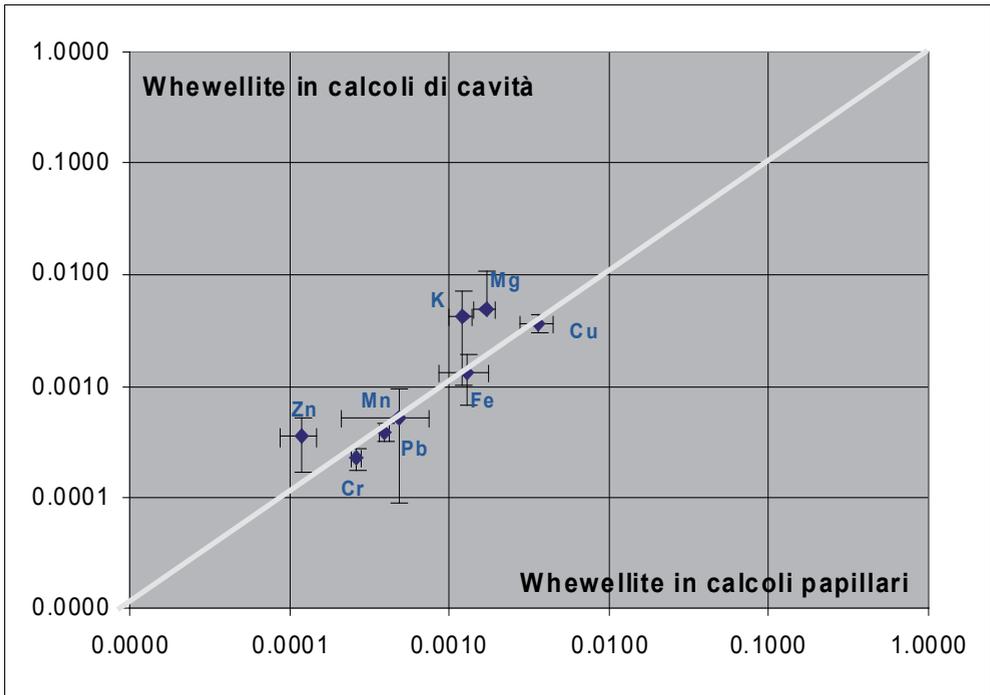


Figura 4.12 Confronto tra le concentrazioni medie di elementi nei due tipi di calcoli composti in prevalenza da whewellite

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).

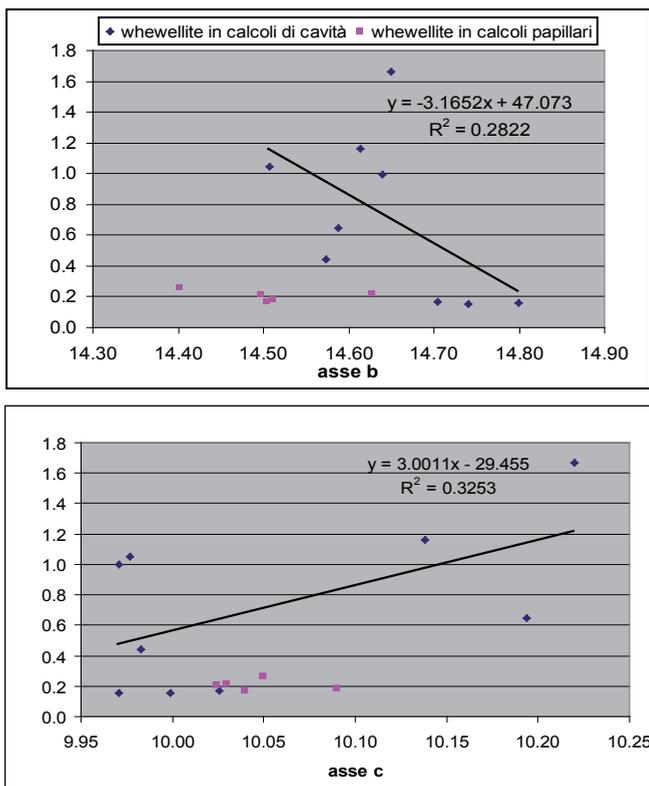


Figura 4.13 Correlazione tra il contenuto di K in diversi calcoli di whewellite ed i parametri di cella
Comparison between potassium content in different whewellite kidney stones and whewellite unit cell dimension

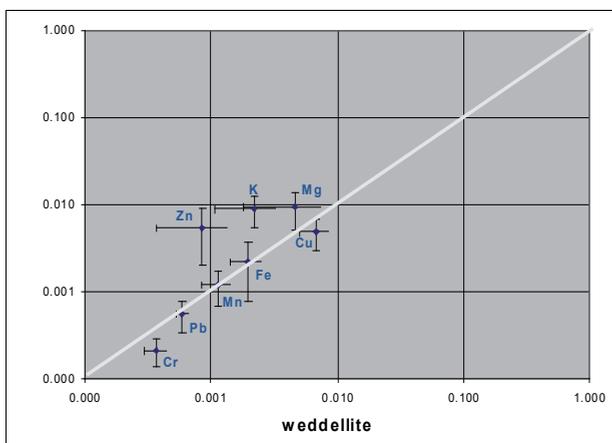


Figura 4.14 Distribuzione degli elementi chimici nella weddellite (calcolo tipo 3) vs. weddellite+idrossapatite (calcolo tipo4)
Weddellite element distribution (kidney stones type 3) vs. weddellite+hydroxyapatite element distribution (kidney stones type 4)

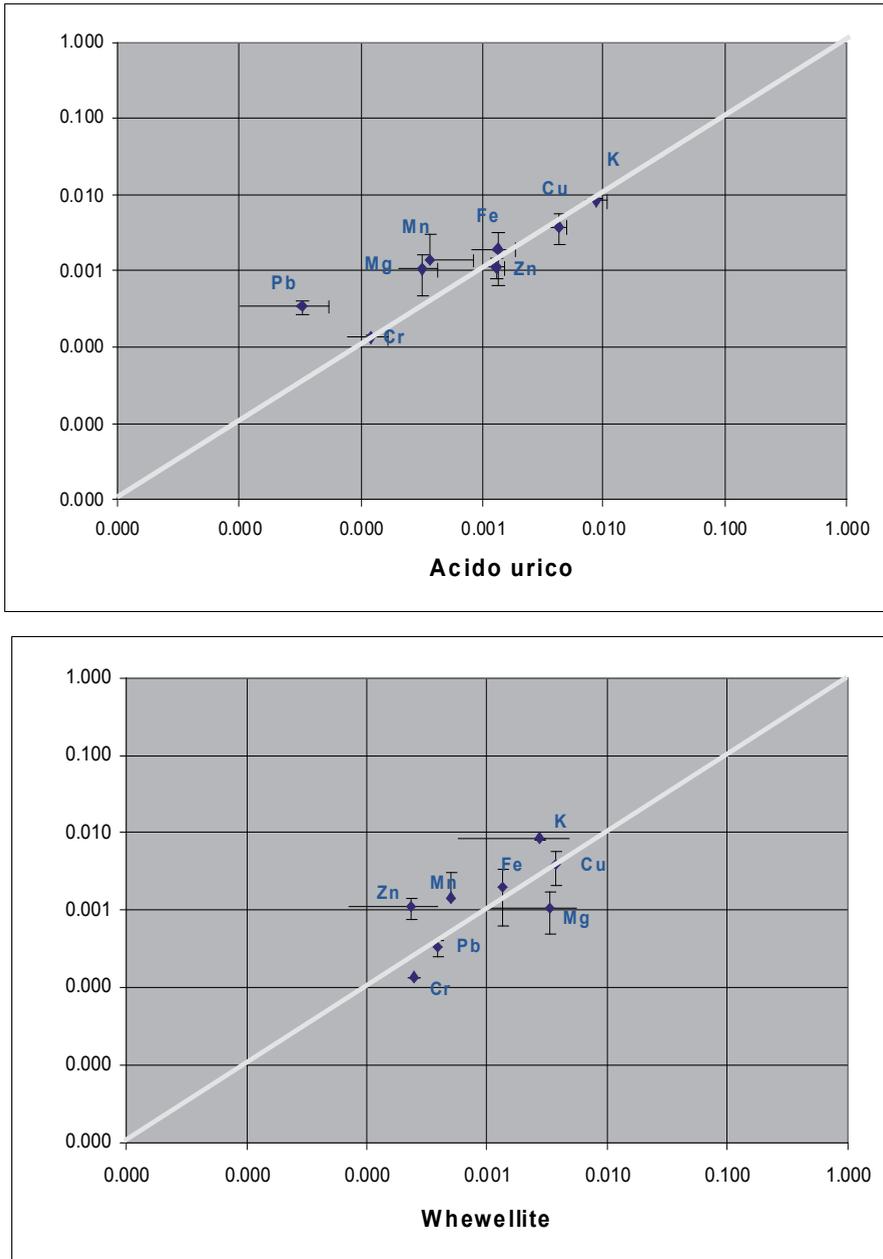


Figura 4.15 Distribuzione degli elementi chimici nei calcoli misti di acido urico+whewellite (calcolo tipo 9) vs. l'acido urico (calcolo tipo 8) e vs. la whewellite
Element distribution in uric acid+whewellite kidney stones (type 9) vs. acid uric element distribution (kidney stones type 8) and whewellite 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
Ca	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
K	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
Mg	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
Fe	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
Zn	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
Cu	media	0.574	0.19	0.285	0.0013
	range	0.22-0.98	0.002-1.05	0.24-0.33	
Mn	media	0.119	0.029	0.13	0.07
	range	0.06-0.20	0.005-0.06		
Pb	media	0.049			
	range	0.008-0.085			
Cr	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].

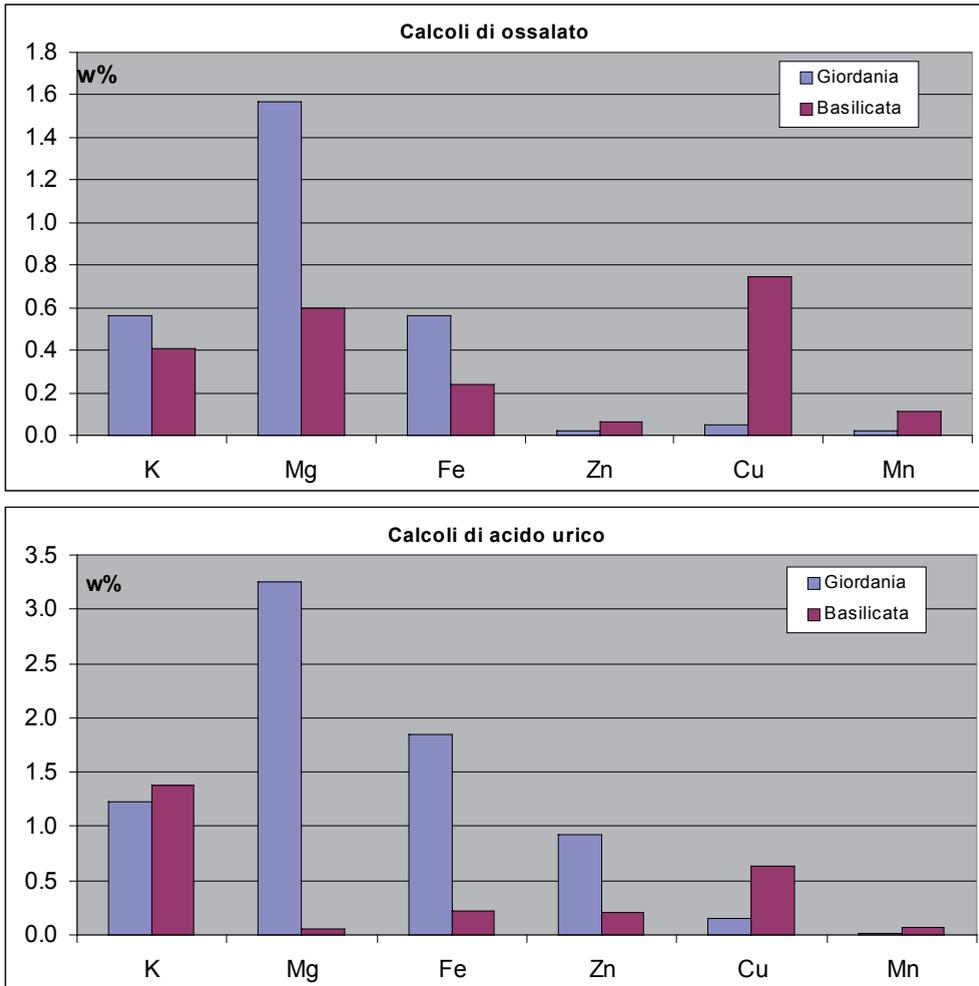


Figura 4.16 Confronto tra le quantità di elementi in tracce dosati in alcune tipologie di calcoli della Basilicata e quelli di letteratura [Giordania, Abboud 2008]
Comparison between trace element concentration in some kind of kidney stones in Basilicata and kidney stones from previous studies

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.

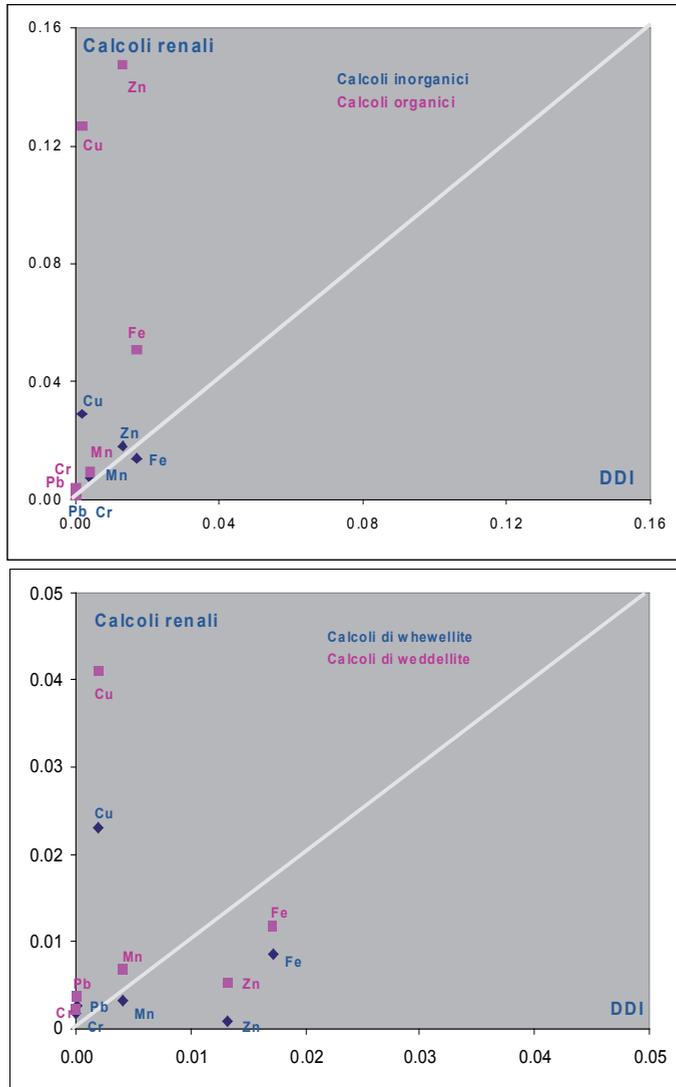


Figura 4.17 Correlazione tra le dosi di elementi in tracce accumulate nei calcoli renali e quelle trasferite dalla dieta (DDI)

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).

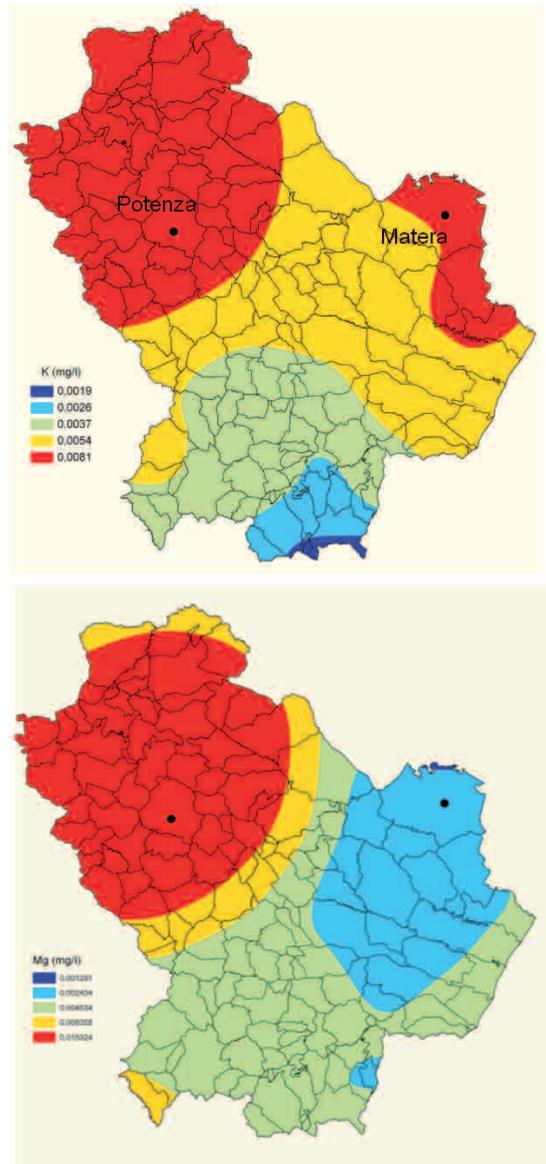


Figura 4.18 Distribuzione areale del contenuto di K e Mg nei calcoli analizzati
Geographic distribution of K and Mg concentration in analyzed kidney stones

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.

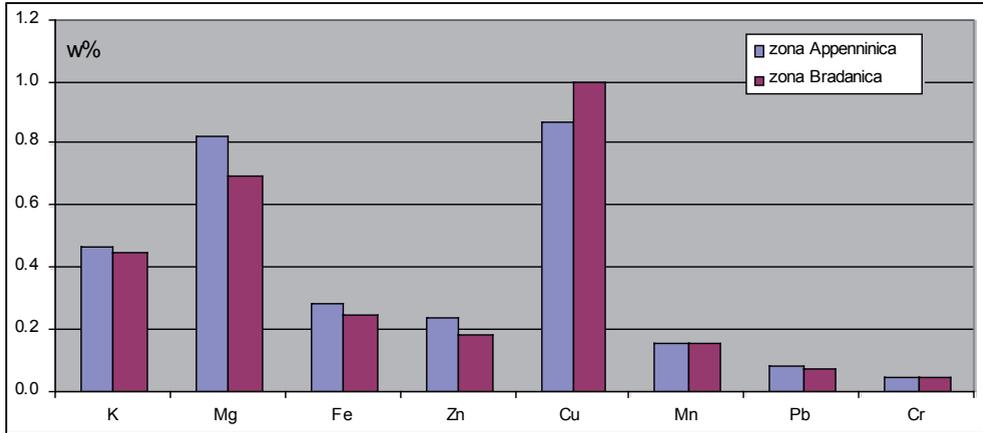


Figura 4.19 Confronto fra la distribuzione del contenuto in elementi in tracce in calcoli di weddellite variamente distribuiti tra i comuni di dominio Appenninico e della Fossa Bradanica
Comparison between trace element content in weddellite kidney stones in Apennine area and Bradanic Foredeep zone

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, Yurtarslan 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

- 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.

CAPITOLO 5

CONCLUSIONI

L'idea progettuale portata a termine nasce da un'attenta analisi della situazione sanitaria ed ambientale regionale che vede una stretta correlazione causa-effetto fra condizioni di vita e comparsa della calcolosi renale che, se non adeguatamente trattata, può comportare gravi danni alla salute umana ed un elevato costo sociale.

Il progetto di ricerca ha visto la messa in atto di uno studio multidisciplinare, partendo dallo studio epidemiologico della nefrolitiasi in Basilicata, dalla raccolta e caratterizzazione chimico-mineralogica e petro-morfologica di 80 calcoli renali, fino allo studio dei fattori demografici, geo-ambientali e comportamentali influenzanti i processi di crescita dei suddetti biominerali.

L'attività scientifica condotta rappresenta un primo esempio di studio italiano sui calcoli renali ed i fattori ambientali ad una scala regionale.

Lo studio epidemiologico è stato sicuramente il primo passo verso la comprensione del problema e grazie all'integrazione dei dati derivanti dai questionari somministrati ai pazienti, ha permesso di confermare che l'andamento della patologia in regione è concorde con l'andamento nazionale e mondiale, sia in termini di genere prevalente (maschile) e sia in termini di fascia di età più colpita (40-60 anni).

La nefrolitiasi, pur essendo una patologia ampiamente diffusa, trova maggiore espressione in particolari aree della Basilicata che risultano accomunate da caratteri demografici e comportamentali della popolazione e da un ambiente che rende favorevole lo sviluppo di calcoli renali.

I fattori di rischio determinati per la Basilicata potrebbero non essere ritenuti tali in altre regioni, questo perché la nefrolitiasi è una patologia multifattoriale ed il peso di ogni fattore è legato ad una combinazione di più variabili.

Risulta necessario, quindi, eseguire studi con il medesimo approccio metodologico in molte altre località per confermare o meno i risultati ottenuti.

L'utilizzo di un approccio statistico per risalire all'influenza ambientale sullo sviluppo dei calcoli renali ha consentito di determinare una serie di fattori di rischio geo-ambientali quali le basse temperature, le alte altitudini, la scarsa radiazione solare, la durezza delle acque ed alcune caratteristiche del suolo, che consentono di delimitare le aree a rischio alla porzione appenninica della Basilicata.

Le associazioni statistiche riscontrate sono state verificate e/o perfezionate grazie all'approfondimento delle conoscenze mineralogiche, cristallografiche, morfologiche e chimiche dei calcoli renali.

In particolare, i risultati hanno consentito di assegnare ai calcoli di acido urico, che mostrano una elevata percentuale di prevalenza distribuita esclusivamente

nel nord della Basilicata, dei fattori influenzanti il loro sviluppo legati prima di tutto alle abitudini alimentari come un eccesso di proteine ed un consumo di acque poco dure con basso contenuto in bicarbonati che non facilitano l'alcalinizzazione dell'urina.

Questi fattori possono spiegare, inoltre, la scarsa presenza di calcoli di fosfato di calcio nelle stesse aree in quanto presentano caratteri opposti rispetto ai calcoli di acido urico.

Durante la stone analysis sono state documentate la presenza di strutture di crescita particolarmente rilevanti ai fini della comprensione dei meccanismi di formazione o che sono testimonianza delle relazioni esistenti tra minerali, nonché delle associazioni mineralogiche inusuali che sono indicatori di cambiamenti di chimismo nel sito di mineralizzazione.

Ciò ha permesso di migliorare i più recenti schemi classificativi dei calcoli renali, con l'individuazione di un nuovo gruppo di calcoli formati in prevalenza da weddellite e struvite, presente in piccole o in quantità comparabili all'altra fase.

La composizione mineralogica e l'analisi della struttura interna del calcolo hanno consentito di classificare ogni calcolo, e di conseguenza ogni paziente, in più di 30 sottogruppi differenti, ognuno caratterizzato da fattori etiologici specifici utili per programmare appropriati interventi di cura e prevenzione della patologia, specie in presenza di calcoli misti che richiedono un intervento calibrato per ogni fase mineralogica presente.

Per ultimo, ma non meno importante, sono stati dosati alcuni elementi chimici presenti nei calcoli renali per capirne l'importanza ed il coinvolgimento nel processo di biomineralizzazione.

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.

Alcuni elementi, particolarmente abbondanti, non possono essere solo il risultato di una assunzione da una dieta standard ma necessariamente devono essere interpretati come un segnale di una qualche anomalia nella catena alimentare e quindi nell'ambiente circostante. Particolare attenzione è stata rivolta ad elementi potenzialmente tossici come il piombo ed il cromo.

I risultati raggiunti dall'attività di ricerca potranno essere di supporto agli operatori medici del settore e alle Istituzioni locali deputate alla salvaguardia della salute umana, per mettere in atto interventi di prevenzione e cura oltre che fornire informazioni aggiuntive sui fattori di rischio per la nefrolitiasi in Basilicata.

Nel dettaglio serviranno a:

- Calibrare una cura farmacologica e/o dietetica in funzione della corretta tipologia di calcolo renale che permetterà di ridurre le recidive;
- Individuare, in relazione alla composizione e struttura, la zona di nucleazione ed accrescimento dei calcoli renali che consentirà di effettuare un trattamento farmacologico più efficace;
- Monitorare e mitigare i fattori geo-ambientali considerati a rischio in alcune aree della Basilicata e per alcune tipologie di calcoli.

Le conoscenze acquisite durante questo studio potranno essere oggetto di formazione, scambio e trasferimento di competenze al personale sanitario presente presso le strutture ospedaliere locali e non ed oggetto di azioni di sensibilizzazione rivolta alla popolazione, con particolare riferimento alle zone ed ai soggetti più a rischio.

QUESTIONI APERTE

Sulla base dei risultati ottenuti con il progetto di ricerca è importante continuare lo studio dei calcoli renali ampliando ed approfondendone alcuni aspetti.

In particolare, si ritiene necessario continuare le attività messe in atto in precedenza, approfondendo gli aspetti geo-ambientali di alcune aree a rischio ed estendendo l'approccio multidisciplinare adottato e lo studio epidemiologico nel tempo, sia in Basilicata che in altre regioni, con lo scopo di rafforzare le correlazioni precedentemente riscontrate tra prevalenza di nefrolitiasi e fattori geo-ambientali.

Continuare la raccolta e caratterizzazione dei calcoli consentirà di migliorare il dato di percentuale di prevalenza delle diverse tipologie, sulla base di una classificazione sempre più dettagliata ed implementata con la nuova tipologia di calcoli renali.

SOMMARIO ESTESO

L'organismo umano è composto da una serie di minerali: alcuni si formano in condizioni fisiologiche e controllate e perciò sono detti biominerali fisiologici (ossa, denti e smalto). Questo tipo di processo di cristallizzazione è regolato da una serie di fattori: la modificazione di uno di questi potrebbe provocare l'alterazione del normale processo di cristallizzazione, dando luogo a tutta una serie di calcificazioni anomale. Queste calcificazioni sono chiamate patologiche e possono avere gravi conseguenze sull'organismo umano.

In funzione dell'organo o della parte del corpo colpita, distinguiamo vari tipi di calcificazioni patologiche: calcoli renali e delle vie urinarie, calcoli biliari, calcificazioni cardiovascolari, calcoli o depositi cristallini nelle ghiandole o condotti salivari, formazione di tartaro, depositi di pirofosfato calcico nella cartilagine, gotta (deposizione di acido urico).

Ognuna di queste patologie necessita di studi approfonditi, soprattutto sull'influenza che l'ambiente può esercitare sul loro sviluppo, vista la scarsa letteratura scientifica in merito.

La nefrolitiasi, o litiasi renale, si definisce come una patologia multifattoriale che implica la formazione di una struttura solida nella quale coesistono cristalli e materia organica nell'urina all'interno dei reni.

Questa è una malattia molto frequente che affligge dall'1 al 15% della popolazione mondiale. La prevalenza di litiasi renale differisce molto nelle diverse parti del mondo: in Asia è pari al 1-5%, in Europa al 5-9%, nel Nord America 13-15% ed in Arabia Saudita 18-20%. In Spagna, la prevalenza è superiore al 4% e raggiunge valori di circa il 14.3% nelle isole Baleari. In Italia la percentuale di prevalenza della litiasi renale varia dal 3% al 13%.

La litiasi renale è stata sempre presente, praticamente dall'inizio dell'umanità. Il calcolo più antico di cui si è a conoscenza è datato a 4800 a.C., ed è stato ritrovato in una tomba preistorica di El Amrah.

Il primo studio sulla composizione di un calcolo renale fu realizzato intorno al 1800 da Schellee (1742–1786) e Bergman (1734–1794) che identificarono un calcolo di acido urico. Tuttavia, nonostante gli studi su questa patologia si siano estesi ed approfonditi, al giorno d'oggi rimane ancora una patologia ad alta percentuale di recidive (il 75% nei 10 anni che seguono l'evento patologico) dovute al fatto che, nella maggior parte dei casi, non viene attuato un trattamento terapeutico efficace ed adatto al tipo di calcolo in esame.

Questa carenza è da correlare all'assenza di un approccio multidisciplinare che implica la conoscenza mineralogica e cristallografica del calcolo e, con lo scopo di colmare alcune di queste lacune, è stato svolto uno studio approfondito

sui calcoli renali.

Avendo osservato che lo sviluppo di calcoli renali in Italia negli ultimi dieci anni ha registrato un incremento, particolarmente accentuato nel Mezzogiorno, è stata presa come area di studio la Regione Basilicata, accogliendo anche la richiesta giunta dagli operatori medici del settore e dalle Istituzioni locali preposte alla tutela della salute umana, per porre l'attenzione sull'importanza dell'approccio chimico-mineralogico e petro-morfologico nello studio di biominerali con particolare riguardo a quelli che, accrescendosi all'interno del corpo umano, ne costituiscono una patologia, proprio come i calcoli renali.

Attualmente non risultano studi simili eseguiti in Italia. A livello internazionale, invece, la produzione scientifica mostra numerosi studi di settore sebbene condotti in prevalenza da medici che osservano il fenomeno da un altro punto di vista.

Lo studio dei calcoli renali in generale è abbastanza trascurato nella diagnostica medica. Questo impedisce allo studioso di nefrolitiasi di ottenere una vasta gamma di informazioni utili per comprendere l'origine della patologia e per risalire ai fattori influenzanti, molti dei quali sono legati all'interazione con l'ambiente circostante.

Lo scopo generale di questa tesi di dottorato è stato quello di approfondire le conoscenze mineralogiche, cristallografiche, morfologiche e chimiche dei calcoli renali al fine di implementare la loro classificazione morfo-composizionale e determinare i fattori geo-ambientali e comportamentali che maggiormente ne influenzano lo sviluppo in modo da definire una differente prevalenza geografica in Basilicata.

Per il raggiungimento di questo scopo, sono stati definiti degli obiettivi specifici da perseguire:

- Individuazione della distribuzione geografica della patologia attraverso uno studio epidemiologico triennale per risalire al tasso di prevalenza relativo nelle diverse aree della regione aventi differenze geologiche, pedologiche e climatiche;
- Determinazione della composizione di un elevato numero di calcoli renali raccolti in un triennio grazie alla collaborazione dello staff medico del Dipartimento di Nefrologia e Litotrissia dell'Azienda Ospedaliera Regionale San Carlo di Potenza, attraverso l'utilizzo di tecniche integrate di microscopia e diffrazione;
- Implementazione dei più recenti schemi classificativi sui calcoli renali;
- Descrizione di strutture interne di calcoli prevalenti e ricostruzione degli scenari di crescita dei biominerali patologici più diffusi in Basilicata;

- Dosaggio di specifici elementi chimici perché particolarmente coinvolti nel processo di cristallizzazione (Ca, Mg) o perché rappresentanti dei potenziali rischi per la salute umana (Pb, Cr), per avere ulteriori dati a supporto del possibile ruolo di alcuni elementi chimici nel processo di nucleazione e crescita dei calcoli o semplicemente per valutarne il loro ruolo in termini di monitoraggio ambientale;
- Valutazione dei fattori predisponenti ed influenzanti i processi di biomineralizzazione.

MATERIALI E METODI

Al fine di individuare le nefrolitiasi prevalenti è stato eseguito uno studio epidemiologico triennale (2003-2005) in collaborazione l'Ufficio Risorse Finanziarie e investimenti del sistema salute della Regione Basilicata.

Lo studio epidemiologico attivato è di tipo descrittivo, dove l'eleggibilità "a CASO" è dettata dalle seguenti caratteristiche:

“soggetto residente in qualsiasi comune della Basilicata, di qualsiasi sesso ed età, che nel periodo di osservazione prestabilito (2003-2005) è stato ricoverato presso una qualsiasi struttura ospedaliera nazionale per le diagnosi “Calcolosi urinaria con complicazioni e/o litotrissia mediante ultrasuoni” (DRG 323) e “Calcolosi urinaria senza complicazioni” (DRG 324); [DRG = Diagnosis Related Groups; in italiano “Raggruppamenti Omogenei di Diagnosi”, ROD]”.

Un campione rappresentativo dei residenti in Basilicata, corrispondente ai ricoverati presso l'Azienda Ospedaliera principale della Regione, il “San Carlo” di Potenza, è stato selezionato per risalire alle abitudini dietetiche e comportamentali attraverso la somministrazione di un questionario per tutto il periodo di osservazione.

Il questionario comprende una serie di domande riguardanti i dati personali (sesso, età, stato civile, indirizzo completo e livello scolastico), socio-economici (tipo di lavoro, attività sportiva) e la storia medica (peso, altezza, anamnesi personale e familiare, abitudini alimentari). In particolare sulle abitudini alimentari, ci sono domande specifiche sulle quantità giornaliere e sul tipo di acqua utilizzata (imbottigliata o meno). Inoltre, se consumano, e con quale frequenza, alcuni cibi e bevande particolari (es. vegetali ricchi in ossalati) e nel caso siano prodotti biologici, il luogo esatto di coltivazione per valutare la possibilità di ingerire elementi chimici promotori di calcoli provenienti dal suolo coltivato.

Su tutti i calcoli renali raccolti nel triennio 2006-2009 è stata eseguita una caratterizzazione morfo-composizionale con l'impiego di tecniche integrate di microscopia ottica ed elettronica a scansione e di diffrazione di raggi X per

polveri.

Mediante tecniche di spettroscopia ottica e di assorbimento atomico è stato eseguito il dosaggio di alcuni elementi chimici particolarmente coinvolti nel processo di cristallizzazione dei calcoli (Ca, Mg) o perché potenzialmente tossici (Pb, Cr).

RISULTATI E DISCUSSIONE

La prevalenza di calcolosi renale in Basilicata ed i possibili fattori influenzanti

Lo studio epidemiologico è stato sicuramente il primo passo verso la comprensione del problema e, integrando questo con i dati derivanti dai questionari somministrati ai pazienti, si è potuto confermare che l'andamento della patologia in Regione è concorde con l'andamento nazionale e mondiale, sia in termini di genere prevalente (maschile) che in termini di fascia di età più colpita (40-60 anni).

In base ad una popolazione regionale media annua pari a circa 597000 residenti in Regione (da stime intercensuali ISTAT), si registrano circa 10 malati di calcolosi all'anno su 1000 residenti in Basilicata.

Non è possibile confrontare il risultato per la regione Basilicata e quello a livello nazionale, perché provengono da tipologie di studio differenti ma, soprattutto, non si riferiscono ad una popolazione di riferimento ugualmente stratificata per sesso e per età: si avvicina comunque, molto al dato proposto da Serio & Fraioli (1999) per l'Italia.

Il tasso di prevalenza a livello regionale è destinato a salire se viene calcolato per aree di competenza delle ASL (Azienda Sanitaria Locale) della Regione. Tra le 5 ASL si registra uno scarto di 5 malati di calcolosi su 1000 abitanti, con un massimo per l'ASL n. 2 di Potenza. Una prevalenza media maggiore di 12‰ abitanti si rileva in comuni della zona N-NW della regione, ad eccezione di qualche caso isolato nella parte meridionale.

La calcolosi renale è una patologia molto diffusa in Basilicata principalmente in particolari aree che sono accomunate da caratteri demografici e stili di vita della popolazione. In tali aree, dopo gli studi effettuati, si è supposto che anche l'ambiente, potenzialmente favorevole allo sviluppo di calcoli renali, potesse dare un forte contributo.

Attraverso un approccio statistico, è stato verificato che i fattori che possono contribuire alla distribuzione di un maggiore tasso di prevalenza di calcolosi nelle aree di dominio appenninico in Basilicata sono: il genere maschile, un'età compresa tra i 40-59 anni, le basse temperature, l'alta quota che favorisce una dieta ricca in proteine animali e la durezza delle acque. La combinazione di

questi e di altri fattori può spiegare perché vivere in alcune aree della Basilicata aumenterebbe il rischio di formazione di calcoli renali.

I fattori di rischio determinati per la Basilicata potrebbero non essere ritenuti tali in altre regioni: questo perché la calcolosi renale è una patologia multifattoriale ed il peso di ogni fattore è legato ad una combinazione di più variabili. Risulta necessario, quindi, eseguire studi con il medesimo approccio metodologico in molte altre località per confermare e/o modificare i risultati ottenuti.

Analizzando le percentuali delle risposte ad alcune domande che riguardano le informazioni socio-economiche dei pazienti (tipo di lavoro, attività sportiva) e la loro storia medica (anamnesi personale e familiare, abitudini alimentari), si osserva che:

- il numero dei pazienti che ha già sofferto di nefrolitiasi è più della metà, quindi è diffuso il problema delle recidive;
- anche se più della metà dei pazienti afferma di avere familiari che sono stati o sono affetti da nefrolitiasi, il dato non è pienamente a supporto dell'ipotesi di un fattore ereditario predominante per questa patologia;
- il clima che caratterizza le diverse stagioni non influisce sugli stadi dolorosi della patologia;
- non si riscontrano correlazioni tra nefrolitiasi ed altre malattie;
- alcuni stili di vita considerati dannosi e predisponenti alla nefrolitiasi, quali la sedentarietà, l'eccessiva sudorazione, l'ambiente di lavoro surriscaldato, la scarsa attività fisica, non sembrano influenzare l'insorgere della patologia.

La caratterizzazione composizionale dei calcoli renali

Per risalire all'influenza ambientale sullo sviluppo dei calcoli renali, i risultati dello studio statistico sono stati verificati e/o perfezionati grazie all'approfondimento delle conoscenze mineralogiche, cristallografiche, morfologiche e chimiche dei calcoli renali stessi.

Su più di 100 calcoli renali raccolti in un triennio (espulsi spontaneamente o asportati chirurgicamente da pazienti residenti in regione) è stata eseguita una caratterizzazione morfo-composizionale con l'impiego di tecniche integrate di microscopia ottica ed elettronica a scansione e di diffrazione di raggi X per polveri.

I risultati dell'analisi dei campioni mostrano che i componenti mineralogici dei calcoli renali raccolti possono essere divisi in 4 grandi categorie:

- ossalati di calcio (fase mono-idrata - whewellite; fase bi-idrata - weddellite);
- fosfati di calcio (idrossapatite e struvite, 6%);
- acido urico;
- cistina.

Il 32% dei campioni sono calcoli misti, costituiti cioè da una quantità comparabile di due fasi mineralogiche (es. weddellite e idrossapatite oppure whewellite ed acido urico).

L'identificazione delle diverse fasi mineralogiche è avvenuta innanzitutto sulla base delle riprese diffrattometriche abbinate, poi, alle caratteristiche macroscopiche e microscopiche. In qualche caso la conferma è avvenuta con la microanalisi al SEM.

Su un numero rappresentativo di calcoli renali di dimensioni maggiori, sono state ricavate delle sezioni sottili a cui è seguita un'attenta analisi petrografica da cui si è evito che i calcoli di whewellite presentano al loro interno, di solito, più nuclei di accrescimento: il calcolo risulta quindi essere il risultato di più processi di nucleazione e crescita che si sviluppano simultaneamente. Questa struttura conferisce al calcolo una durezza elevata che rende più complicata la sua frantumazione attraverso le tecniche di litotrissia.

La combinazione del dato mineralogico e quello morfologico ha consentito, inoltre, di ottenere importanti informazioni anche sul sito di formazione di alcuni tipi di calcoli.

Circa il 29% dei calcoli renali composti da ossalato di calcio, è formato dalla forma di ossalato bi-idrato, cioè weddellite formatasi in cavità renali. In una percentuale elevata (11%) di calcoli di ossalato di calcio nella forma mono-idrata la whewellite si è sviluppata a contatto con le pareti renali. Il nucleo di questo tipo di calcolo si può formare esclusivamente dove la parete del rene (epitelio) risulta alterata o danneggiata: le cellule dell'epitelio danneggiato tendono ad accumulare calcio creando così le condizioni favorevoli per i processi di calcificazione. In alcuni casi lo stesso epitelio danneggiato può fungere da substrato per la nucleazione di calcoli di whewellite: in questo caso, il nucleo del calcolo è composto quasi interamente da materia organica.

Su un numero rappresentativo di campioni sono stati dosati alcuni elementi chimici presenti per capirne l'importanza ed il coinvolgimento nel processo di biomineralizzazione.

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: la presenza particolarmente abbondante di alcuni elementi non può essere solo il risultato di una assunzione da una dieta standard ma, necessariamente, deve essere interpretata come un segnale di una qualche anomalia nella catena alimentare e quindi nell'ambiente circostante. Particolare attenzione è stata rivolta ad elementi potenzialmente tossici come il piombo ed il cromo.

La classificazione dei calcoli renali

Questo approccio più dettagliato allo studio dei calcoli renali, ha permesso di implementare i più recenti schemi classificativi degli stessi, con l'individuazione di un nuovo gruppo di calcoli formati in prevalenza da weddellite e struvite.

Per avere una valutazione comparativa della percentuale di prevalenza dei calcoli lucani sulla base dello stesso grado di dettaglio applicato, i risultati ottenuti sono stati confrontati con la prevalenza riscontrata a seguito di studi di caratterizzazione dei calcoli in altre comunità europee (vista la mancanza di dati nazionali), come quella delle isole delle Baleari e quella francese, al fine di individuare eventuali similitudini e/o differenze.

Dal confronto è possibile trarre alcune importanti conclusioni. E' possibile osservare che, nella comunità lucana, i calcoli più frequenti risultano essere sempre quelli composti da ossalato in calcio, mentre si registra un più alto numero di calcoli di acido urico a discapito di quelli composti da fosfati di calcio. L'abbondante presenza di acido urico, quale componente prevalente nei calcoli di pazienti lucani, si evidenzia anche dall'alta percentuale di calcoli misti formati dalla combinazione di acido urico ed ossalati di calcio. Talvolta, il nucleo di questi tipi di calcoli, è rappresentato da frammenti di calcoli precedenti che hanno subito un trattamento di litotrixxia che però non lo ha ridotto a dimensioni tali da poterlo facilmente espellere o eliminare con un trattamento farmacologico appropriato. Questa maggiore abbondanza non è inusuale per l'Italia e può essere collegata ad alcuni particolari fattori di rischio legati prima di tutto alle abitudini alimentari come un eccesso di proteine ed un consumo frequente di alcool.

I fattori di rischio per lo sviluppo di calcoli di acido urico sono da ricercarsi, innanzitutto, nel sito di biomineralizzazione che deve avere: cavità renali con bassa efficacia urodinamica per consentire la cristallizzazione; sovrassaturazione rispetto all'acido urico (iperuricuria); valori di pH < 5.5.

Questi parametri chimici critici sono strettamente legati all'eccessivo consumo di alimenti ricchi in purina (carne, salumi, crostacei, pesce e legumi) e scarso apporto nella dieta di succo di agrumi, bevande gassate e vegetali. Anche la caffeina e l'alcool possono aumentare la concentrazione di acido urico nelle urine.

I bassi valori di pH sono influenzati anche dalla qualità delle acque ingerite: se c'è un consumo frequente di acque poco dure e debolmente bicarbonatiche non si favorisce l'alcalinizzazione delle urine.

Quest'ultimo punto potrebbe giustificare la distribuzione geografica dei calcoli di acido urico concentrati esclusivamente nel nord della regione, zona

con prevalente diffusione di acque poco dure. Queste zone, inoltre, sono caratterizzate da una scarsa radiazione solare e temperature medie più basse rispetto al resto della regione, tutti fattori che non favoriscono l'assunzione di liquidi e il maggior assorbimento di calcio.

CONCLUSIONI

L'idea progettuale portata a termine nasce da un'attenta analisi della situazione sanitaria ed ambientale regionale che vede una stretta correlazione causa-effetto fra condizioni di vita e comparsa della calcolosi renale che, se non adeguatamente trattata, può comportare gravi danni alla salute umana e conseguentemente, un elevato costo sociale.

Il progetto di ricerca ha visto la messa in atto di uno studio multidisciplinare partendo dallo studio epidemiologico della nefrolitiasi in Basilicata, dalla raccolta e caratterizzazione chimico-mineralogica e petro-morfologica di più di 100 calcoli renali, fino allo studio dei fattori demografici, geo-ambientali e comportamentali influenzanti i processi di crescita dei suddetti biominerali.

L'attività scientifica condotta rappresenta un primo esempio di studio italiano sui calcoli renali ed i fattori ambientali su scala regionale.

I fattori di rischio determinati per la Basilicata potrebbero non essere ritenuti tali in altre regioni, questo perché la nefrolitiasi è una patologia multifattoriale ed il peso di ogni fattore è legato ad una combinazione di più variabili. Risulta necessario, quindi, eseguire studi con il medesimo approccio metodologico in molte altre località per confermare e/o modificare i risultati ottenuti.

L'utilizzo di un approccio statistico, per risalire all'influenza ambientale sullo sviluppo dei calcoli renali, ha consentito di determinare una serie di fattori di rischio geo-ambientali quali le basse temperature, le alte altitudini, la scarsa radiazione solare, la durezza delle acque e le caratteristiche del suolo, che consentono di delimitare le aree a rischio alla porzione appenninica della Basilicata.

Le associazioni statistiche riscontrate sono state verificate e/o perfezionate grazie all'approfondimento delle conoscenze mineralogiche, cristallografiche, morfologiche e chimiche dei calcoli renali.

In particolare, i risultati hanno consentito di assegnare ai calcoli di acido urico, che mostrano una elevata percentuale di prevalenza distribuita esclusivamente nel nord della Basilicata, dei fattori influenzanti il loro sviluppo legati prima di tutto alle abitudini alimentari come un eccesso di proteine ed un consumo di acque poco dure con basso contenuto in bicarbonati che non facilitano l'alcalinizzazione dell'urina.

Durante la *stone analysis* è stata documentata la presenza di strutture di crescita particolarmente rilevanti ai fini della comprensione dei meccanismi di formazione o che sono testimonianza delle relazioni esistenti tra minerali, nonché delle associazioni mineralogiche inusuali che sono indicatori di cambiamenti di chimismo nel sito di mineralizzazione.

Ciò ha permesso di implementare i più recenti schemi classificativi dei calcoli renali, con l'individuazione di un nuovo gruppo di calcoli formati in prevalenza da weddellite e struvite, presente in piccole o in quantità comparabili all'altra fase.

La composizione mineralogica e l'analisi della struttura interna del calcolo hanno consentito di classificare ogni calcolo, e di conseguenza ogni paziente, in più di 30 sottogruppi differenti, ognuno caratterizzato da fattori etiologici specifici utili per programmare appropriati interventi di cura e prevenzione della patologia, specie in presenza di calcoli misti che richiedono un intervento calibrato per ogni fase mineralogica presente.

Per ultimo, ma non meno importante, è stato effettuato il dosaggio di alcuni elementi chimici presenti nei calcoli renali per capirne l'importanza ed il coinvolgimento nel processo di biomineralizzazione.

I risultati raggiunti dall'attività di ricerca potranno essere di supporto agli operatori medici del settore e alle Istituzioni locali deputate alla salvaguardia della salute umana, per mettere in atto interventi di prevenzione e cura oltre che fornire informazioni aggiuntive sui fattori di rischio per la nefrolitiasi in Basilicata.

Nel dettaglio serviranno a:

- Calibrare una cura farmacologica e/o dietetica in funzione della corretta tipologia di calcolo renale che permetterà di ridurre le recidive;
- Individuare, in relazione alla composizione e struttura, la zona di nucleazione ed accrescimento dei calcoli renali che consentirà di effettuare un trattamento farmacologico più efficace;
- Monitorare e mitigare i fattori geo-ambientali considerati a rischio in alcune aree della Basilicata e per alcune tipologie di calcoli.

Le conoscenze acquisite durante questo studio potranno essere oggetto di formazione, scambio e trasferimento di competenze al personale sanitario presente presso le strutture ospedaliere locali e non ed oggetto di azioni di sensibilizzazione rivolta alla popolazione, con particolare riferimento alle zone ed ai soggetti più a rischio.

QUESTIONI APERTE

I risultati ottenuti con il progetto di ricerca evidenziano l'importanza di continuare lo studio dei calcoli renali ampliando ed approfondendone alcuni aspetti.

In particolare, si ritiene necessario continuare le attività messe in atto in precedenza approfondendo gli aspetti geo-ambientali di alcune aree a rischio ed estendendo l'approccio multidisciplinare adottato e lo studio epidemiologico nel tempo, sia in Basilicata che in altre regioni, con lo scopo di rafforzare le correlazioni precedentemente riscontrate tra prevalenza di nefrolitiasi e fattori geo-ambientali.

Continuare la raccolta e caratterizzazione dei calcoli consentirà di migliorare il dato di percentuale di prevalenza delle diverse tipologie, sulla base di una classificazione sempre più dettagliata ed implementata con la nuova tipologia di calcoli renali.

APPENDICE

SCHEDE IDENTIFICATIVE DEI CALCOLI RENALI

Sottogruppi

GRUPPO	Descrizione	TIPO	Descrizione	SOTTOTIPO	Descrizione
1	Ossalato di calcio mono.idrato (whewellite) - papillare 11%	1a	nucleo di whewellite e/o materia organica	1al - 3%	nucleo di materia organica
				1all - 9%	whewellite
		1b	nucleo di idrossapatite e/o materia organica	1bl - 0%	nucleo di idrossapatite
				1bil - 0%	nucleo di idrossapatite e materia organica

Composizione mineralogica:

N. campione	Whew	Wedd	Ap	Stru	UA	Cis
17	100					
24	100					
25	100					
39	100					
47	100					
54	100					
56	100					
75	100					
80	100					

Composizione chimica:

N. campione	Ca w%	K w%	Mg w%	Fe w%	Zn w%	Cu w%	Mn w%	Pb w%	Cr w%
17	26,05000	0,20750	0,31500	0,19927	0,01826	0,59317	0,094000	0,062600	0,042667
24	29,67143	0,26274	0,33930	0,36239	0,01387	0,46250	0,026071	0,077875	0,051429
25	26,66667	0,21645	0,29667	0,20982	0,01993	0,68782	0,116000	0,064083	0,046333
39	26,51852	0,18116	0,25317	0,15261	0,02904	0,86296	0,139815	0,067093	0,045556
56	24,98333	0,16645	0,26000	0,20983	0,02198	0,50148	0,042667	0,069267	0,042667
media	26,778	0,207	0,293	0,227	0,021	0,622	0,084	0,068	0,046
ds	1,747	0,037	0,036	0,079	0,006	0,161	0,048	0,006	0,004

Cristallografia:

FASE	SISTEMA: monocino	GRUPPO: P2 1/c	a (Å)	b (Å)	c (Å)	α (°)	β (°)	γ (°)	Volume cella (µm)	
Whewellite	n. campione	tipo	6,29	14,58	10,12	90	109	90	874,90	
	17	1all	6,21	14,50	10,02	90	109	90	853,08	
	24	1all	6,06	14,63	10,03	90	110	90	853,96	
	25	1all	6,20	14,40	10,05	90	110	90	843,40	
	39	1all	6,21	14,51	10,09	90	110	90	855,50	
	47	1al	6,16	14,32	9,76	90	109	90	840,29	
	54	1al	6,42	14,59	9,63	90	109	90	868,64	
	56	1all	6,25	14,50	10,04	90	109	90	888,60	
	75	1all	6,18	14,34	10,08	90	109	90	842,80	
	80	1all	6,53	14,52	9,38	90	110	90	835,20	
		valore medio		6,25	14,48	9,90	90	110	90	853,50
		deviazione standard		0,14	0,11	0,25	0	0	0	16,55



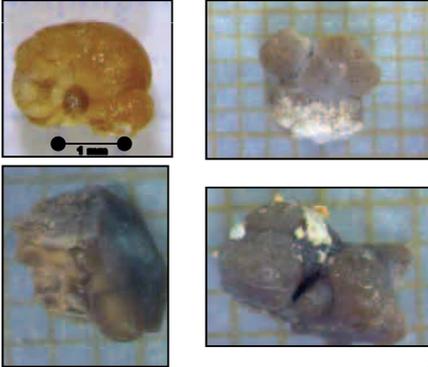
Caratteristiche esterne:

Calcolo di morfologia semisferica, che presenta una superficie concava che rappresenta il punto di contatto con la parete della papilla renale.

In questo punto è localizzato il nucleo del calcolo.

Colore: variabile, da marrone scuro a marrone.

Dimensioni: piccole 2-8 mm.



Composizione:

Componente principale: Ossalato di calcio monoidrato $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot [\text{H}_2\text{O}]$

Possibili componenti secondari: idrossapatite, materia organica, urati (nel nucleo); ossalato di calcio bi-idrato (sulla superficie).

Etiologia:

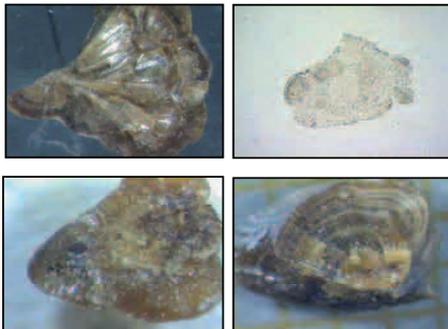
I fattori etiologici legati alla formazione di questo tipo di calcolo sono la presenza di qualche lesione dell'epitelio della papilla renale, presenza di materia organica nell'urina, possibile iperossaluria e deficit di inibitori della cristallizzazione dell'ossalato di calcio.

% di prevalenza:

In Basilicata 8,62%
In bibliografia 12,9% [Grases et al., 2002]

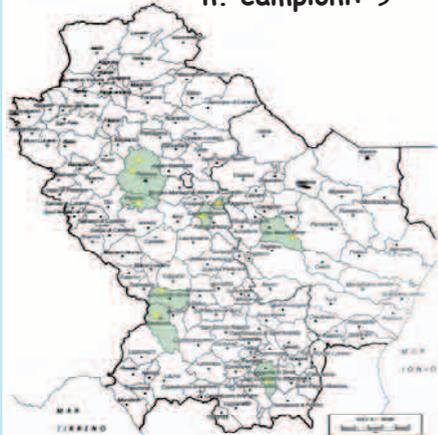
Struttura interna:

Presenta un nucleo (composto da cristalli di whewellite, materia organica, e/o idrossapatite), vicino al punto di contatto con la parete della papilla renale, dal quale si dipartono, in forma radiale o concentrica, i cristalli di whewellite colonnari, di colore variabile dall'arancio scuro al marrone scuro.



Distribuzione geografica:

n. campioni: 9



Informazioni medie:

genere: F/M
età: 47

GRUPPO 1 - Calcolo papillare di whewellite

Sottogruppi

GRUPPO	Descrizione	TIPO	Descrizione
2	Ossalato di calcio mono.idrato (whewellite) - di cavità 19%	2a - 10%	nucleo di whewellite e materia organica
		2b - 9%	nucleo di idrossapatite e materia organica
		2c - 0%	nucleo urico

Composizione mineralogica:

N. campione	Whew	Wedd	Ap	Stru	UA	Cis
4	100					
8	100					
13	100		tr.			
16	100		tr.			
22	100					
27	100					
41	100		tr.			
50	100					
58	100		tr.			
61	100		tr.			
63	100					
65	100		tr.			
67	100					
68	100		tr.			
69	100					

Composizione chimica:

N. campione	Ca w%	K w%	Mg w%	Fe w%	Zn w%	Cu w%	Mn w%	Pb w%	Cr w%
4	26,09464	0,15292	0,22073	0,26766	0,04163	0,92321	0,054464	0,068804	0,046250
8	25,00000	0,15750	0,15076	0,20356	0,07596	0,59667	0,087333	0,066367	0,041833
13	24,15000	1,15910	1,85333	0,17158	0,07731	0,65900	0,043167	0,056150	0,033000
22	24,83500	0,64598	2,71167	0,14813	0,10526	0,44833	0,013833	0,066500	0,040500
27	21,97059	0,16870	0,17899	0,10292	0,01008	0,57500	0,062500	0,074750	0,046471
50	24,16667	0,44167	0,18717	0,19825	0,04275	0,52600	0,164167	0,076600	0,032667
58	28,20000	1,04694	0,19803	0,16178	0,03625	0,73000	0,060200	0,078980	0,032400
61	23,78333	1,66433	0,17798	0,48305	0,06291	0,71333	0,244167	0,041000	0,032167
65	23,93333	0,99667	1,64833	0,26470	0,07493	0,49952	0,060000	0,065933	0,037167
media	24,682	0,715	0,814	0,222	0,059	0,630	0,088	0,066	0,038
ds	1,724	0,535	0,984	0,111	0,029	0,145	0,072	0,012	0,006

Cristallografia:

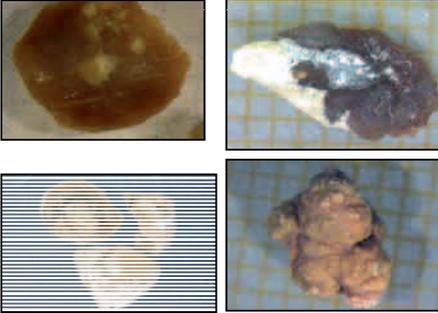
FASE	SISTEMA: monocino	GRUPPO: P2 1/c	a (Å)	b (Å)	c (Å)	α (°)	β (°)	γ (°)	Volume cella (µm)
Whewellite	n. campione	tipo	6,29	14,58	10,12	90	109	90	874,90
	4	2a	6,34	14,74	9,97	90	110	90	877,70
	8	2a	6,22	14,80	10,00	90	109	90	868,80
	13	2b	6,30	14,61	10,14	90	109	90	880,10
	16	2b	6,31	14,59	10,19	90	109	90	884,70
	22	2a	6,70	14,72	9,98	90	115	90	889,20
	27	2a	6,40	14,70	10,03	90	110	90	884,20
	41	2b	6,51	14,42	10,10	90	110	90	893,70
	50	2a	6,27	14,57	9,98	90	110	90	855,80
	58	2b	6,31	14,51	9,98	90	109	90	861,50
	61	2b	6,37	14,65	10,22	90	110	90	894,80
	63	2a	6,50	14,40	9,97	90	110	90	879,60
	65	2b	6,34	14,64	9,97	90	110	90	871,80
	67	2a	6,23	14,61	10,15	90	110	90	869,70
	68	2b	6,70	14,80	9,92	90	112	90	914,80
	69	2a	6,32	14,62	10,19	90	110	90	886,90
	valore medio		6,39	14,63	10,05	90	110	90	880,89
	deviazione standard		0,15	0,12	0,10	0	2	0	14,66

Caratteristiche esterne:

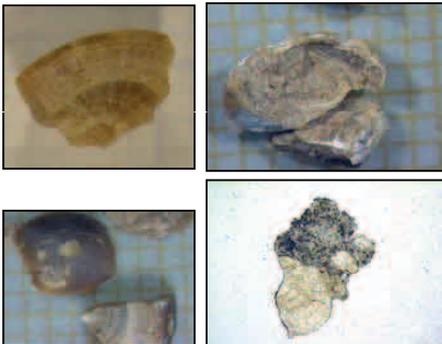
Calcolo di morfologia sferica, che presenta una superficie esterna relativamente liscia senza la presenza di punti di contatto con la parete della papilla renale.

Colore: variabile, da marrone chiaro a marrone scuro.

Dimensioni: piccole 3-10 mm.

**Struttura interna:**

Un tipico calcolo di whewellite di cavità è formato da due zone differenti: un nucleo o zona centrale di composizione variabile (materia organica, idrossapatite o acido urico) e una zona periferica costituita da cristalli colonnari di whewellite che si sono accresciuti perpendicolarmente alla superficie del nucleo.

**Composizione:**

Componente principale: ossalato di calcio monoidrato $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot [\text{H}_2\text{O}]$ Possibili componenti secondari: materia organica, idrossapatite, urati (nel nucleo), ossalato di calcio bi-idrato (sulla superficie).

Etiologia:

I fattori etiologici legati alla formazione di questo tipo di calcolo sono la presenza di cavità renali di bassa efficacia urodinamica. A seconda della composizione del nucleo del calcolo (materia organica, idrossapatite o acido urico) è necessaria la presenza di materia organica nell'urina o un pH >6.0 o <5.5 rispettivamente, possibile iperossaluria e deficit di inibitori della cristallizzazione di sali di calcio.

% di prevalenza:

In Basilicata 17.24%

In bibliografia 16.4% [Grases et al., 2002]

Distribuzione geografica:

n. campioni: 15

**Informazioni medie:**

genere: F

età: 49



Sottogruppi

GRUPPO	Descrizione	TIPO	Descrizione	SOTTOTIPO	Descrizione
3	Ossalato di calcio bi-idrato (weddellite) 29%	3a	solo weddellite	3al - 7%	senza trasformazione
		3b	idrossapatite in piccole quantità	3all - 16%	con trasformazione
		3c	papillare	3bl - 6%	nucleo di idrossapatite
				3bll - 6%	idrossapatite tra i cristalli organica
				3blll	

Composizione mineralogica:

N. campione	Whew	Wedd	Ap	Stru	UA	Cis
3	82	18				
5		100				
100						
6	9					
91						
14		100				
18		100				
19				tr.		
26		100		tr.		
28		100				
28		100				
30		100		tr.		
31	10	90				
32	15	85				
33		100				
37		30				
37	30	70				
42		100		tr.		
43		95				
43		5				
48		100				
48		100				
51		8				
51		92				
57	12	88				
66	6	94				
72	2	98				
76	9	91				
77	15	85				
78	14	86				

Composizione chimica:

N. campione	Ca w%	K w%	Mg w%	Fe w%	Zn w%	Cu w%	Mn w%	Pb w%	Cr w%
3	18,08511	0,24901	0,12350	0,21594	0,02613	0,05851	0,183617	0,060021	0,049255
5	28,28667	0,61567	0,99667	0,26593	0,16419	1,14667	0,186667	0,102050	0,056000
100	17,60625	0,20729	0,34039	0,23422	0,10906	0,54375	0,100833	0,076167	0,048958
14	27,53333	0,25667	1,09500	0,27157	0,16803	1,50133	0,163333	0,084817	0,075167
19	20,90541	0,13264	0,48622	0,17500	0,07999	0,80811	0,152027	0,088149	0,039054
26	28,50000	0,44667	0,76633	0,34250	0,09832	1,49683	0,185667	0,090933	0,066000
28	20,71351	0,39366	0,42105	0,17344	0,08189	0,97027	0,094189	0,070297	0,043378
28	27,96667	0,42333	1,31517	0,34927	0,10198	0,83500	0,183333	0,087417	0,070500
31	23,98529	0,12481	0,10842	0,38764	0,04938	0,75882	0,237941	0,079426	0,047206
31	28,18000	0,39817	0,28517	0,23257	0,19803	1,50333	0,160833	0,097717	0,053667
33	28,50000	0,44667	0,76633	0,34250	0,09832	1,49683	0,185667	0,090933	0,066000
37	20,71351	0,39366	0,42105	0,17344	0,08189	0,97027	0,094189	0,070297	0,043378
42	27,96667	0,42333	1,31517	0,34927	0,10198	0,83500	0,183333	0,087417	0,070500
43	23,98529	0,12481	0,10842	0,38764	0,04938	0,75882	0,237941	0,079426	0,047206
48	28,18000	0,39817	0,28517	0,23257	0,19803	1,50333	0,160833	0,097717	0,053667
51	21,95946	0,16665	0,53919	0,22831	0,13269	0,93108	0,106622	0,085992	0,040000
57	20,23810	0,56033	1,00833	0,39235	0,26175	0,52857	0,151788	0,062107	0,032619
66	21,90541	0,21405	0,47149	0,24539	0,07963	0,96216	0,151351	0,076608	0,042162
media	23,813	0,311	0,685	0,277	0,121	0,984	0,161	0,085	0,053
ds	4,067	0,161	0,466	0,076	0,062	0,324	0,040	0,015	0,014

Cristallografia:

FASE	SISTEMA	monoclinico	GRUPPO	P2 1/c	a (Å)	b (Å)	c (Å)	α (°)	β (°)	γ (°)	Volume cella (µm)
Whewellite	n. campione	tipo	3	3all	6,29	14,58	10,12	90	109	90	874,90
			6	3all	6,31	14,67	10,11	90	109	90	882,90
			31	3all	6,30	14,65	10,05	90	110	90	873,40
			32	3all	6,31	14,67	10,05	90	109	90	877,90
			37	3all	6,33	14,60	10,12	90	110	90	880,30
			43	3all	6,32	14,74	9,92	90	109	90	871,60
			51	3all	6,24	14,53	10,04	90	109	90	858,30
			57	3all	6,31	14,65	10,02	90	110	90	871,80
			66	3all	6,29	14,63	10,10	90	110	90	875,10
			72	3all	6,28	14,63	10,11	90	110	90	875,60
			76	3all	6,30	14,68	10,03	90	110	90	873,40
			77	3all	6,30	14,60	10,16	90	109	90	882,90
			78	3all	6,31	14,58	9,98	90	110	90	865,40
			78	3all	6,24	14,46	10,04	90	110	90	853,80
valore medio				6,30	14,62	10,06	90	110	90	872,49	
deviazione standard				0,03	0,07	0,07	0	0	0	8,79	

FASE	SISTEMA	tetragonale	GRUPPO	I 4/m	a (Å)	b (Å)	c (Å)	α (°)	β (°)	γ (°)	Volume cella (µm)
Weddellite	n. campione	tipo	3	3all	12,37	12,37	7,36	90	90	90	1110,47
			6	3all	12,55	12,55	7,51	90	90	90	1182,94
			31	3all	12,50	12,50	7,50	90	90	90	1171,09
			32	3all	12,44	12,44	7,40	90	90	90	1144,54
			37	3all	12,39	12,39	7,38	90	90	90	1132,29
			43	3all	12,38	12,38	7,38	90	90	90	1130,99
			51	3all	12,32	12,32	7,55	90	90	90	1144,66
			57	3all	12,50	12,50	7,50	90	90	90	1170,31
			66	3all	12,50	12,50	7,49	90	90	90	1170,06
			72	3all	12,40	12,40	7,52	90	90	90	1155,70
			76	3all	12,52	12,52	7,51	90	90	90	1176,13
			77	3all	12,41	12,41	7,43	90	90	90	1143,02
			78	3all	12,43	12,43	7,51	90	90	90	1161,32
			78	3all	12,42	12,42	7,48	90	90	90	1154,26
valore medio				12,44	12,44	7,47	90	90	90	1156,72	
deviazione standard				0,07	0,07	0,06	0	0	0	16,84	

FASE	SISTEMA	tetragonale	GRUPPO	I 4/m	a (Å)	b (Å)	c (Å)	α (°)	β (°)	γ (°)	Volume cella (µm)
Weddellite	n. campione	tipo	5	3al	12,47	12,47	7,38	90	90	90	1148,39
			14	3al	12,34	12,34	7,74	90	90	90	1179,25
			18	3bll	12,39	12,39	7,35	90	90	90	1128,59
			19	3bll	12,34	12,35	7,35	90	90	90	1119,84
			26	3bll	12,34	12,34	7,37	90	90	90	1121,33
			28	3al	12,42	12,42	7,35	90	90	90	1134,55
			30	3bll	12,39	12,39	7,30	90	90	90	1120,04
			33	3al	12,34	12,34	7,38	90	90	90	1122,58
			42	3bll	12,21	12,21	7,31	90	90	90	1088,91
			48	3al	12,41	12,41	7,36	90	90	90	1133,19
valore medio				12,37	12,37	7,37	90	90	90	1127,04	
deviazione standard				0,07	0,07	0,13	0	0	0	22,61	

Caratteristiche esterne:

Calcolo di morfologia sferica e/o ovoidale, che presenta una superficie esterna spigolosa. Talvolta si presenta come un unico grande cristallo di weddellite, o formato da grandi cristalli bi-piramidali di weddellite che si attaccano alla zona centrale.

Colore: variabile, dal giallo al marrone chiaro.
Dimensioni: piccole 4-10 mm.

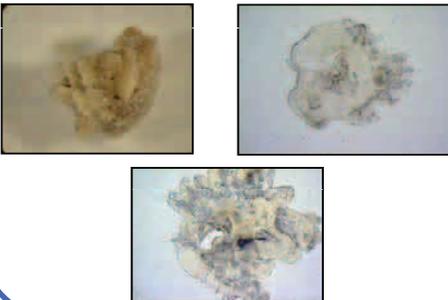
**Struttura interna:**

L'interno di un calcolo di weddellite, non presenta nessuna particolare struttura.

Può essere presente qualche piccola quantità di materia organica e/o idrossapatite, tra i cristalli di weddellite.

L'ossalato di calcio di-idrato può presentarsi parzialmente e/o totalmente trasformato in cristalli di ossalato di calcio monoidrato.

I cristalli di weddellite, a causa della loro forma bi-piramidale, non possono crescere parallelamente ma si sovrappongono gli uni sugli altri a formare una struttura disordinata.

**Composizione:**

Componente principale: ossalato di calcio di-idrato $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2[\text{H}_2\text{O}]$ Possibili componenti secondari: idrossapatite, materia organica, ossalato di calcio monoidrato (che deriva dalla trasformazione di cristalli di weddellite).

Etiologia:

I fattori etiologici legati alla formazione di questo tipo di calcolo sono la presenza di cavità renali di bassa efficacia urodinamica, esistenza di pH urinario $>6,0$, calciuria elevata possibilmente ipercalciuria, possibile iperossaluria e deficit di inibitori della cristallizzazione di Sali di calcio.

% di prevalenza:

In Basilicata 29,31%

In bibliografia 21,5-33,8% [Daudon et al., 2004; Grases et al., 2002]

Distribuzione geografica:

n. campioni: 23

**Informazioni medie:**

genere: M

età: 43



Sottogruppi

GRUPPO	Descrizione	TIPO	Descrizione	SOTTOTIPO	Descrizione
4	Weddellite + idrossapatite - 6%			4I - 3%	stratificato
				4II - 3%	disordinato

Composizione mineralogica:

N. campione	Whew	Wedd	Ap	Stru	UA	Cis
10	3	47	50			
35	3	58	39			
40	7	68	25			
45	2	48	50			
53	2	44	54			

Composizione chimica:

N. campione	Ca w%	K w%	Mg w%	Fe w%	Zn w%	Cu w%	Mn w%	Pb w%	Cr w%
35	22,21029	1,08907	1,06606	0,25701	0,81611	0,58235	0,096176	0,111147	0,026471
53	24,90667	1,07616	1,14277	0,17314	0,31877	0,60333	0,206167	0,053933	0,026500
media	23,558	1,083	1,104	0,215	0,567	0,593	0,151	0,083	0,026
ds	1,907	0,009	0,054	0,059	0,352	0,015	0,078	0,040	0,000

Cristallografia:

FASE	SISTEMA: tetragonale	GRUPPO: I 4/m	a (Å)	b (Å)	c (Å)	α (°)	β (°)	γ (°)	Volume cella (μm)
Weddellite	n. campione	tipo	12,37	12,37	7,36	90	90	90	1110,47
	10	4I	12,44	12,44	7,33	90	90	90	1134,05
	35	4II	12,43	12,43	7,34	90	90	90	1132,85
	40	4II	12,39	12,39	7,35	90	90	90	1128,59
	45	4II	12,34	12,35	7,35	90	90	90	1119,84
	53	4I	12,35	12,35	7,37	90	90	90	1125,59
		valore medio		12,38	12,38	7,36	90	90	90
	deviazione standard		0,04	0,04	0,02	0	0	0	5,37

FASE	SISTEMA: esagonale	GRUPPO: P6 3/m	a (Å)	b (Å)	c (Å)	α (°)	β (°)	γ (°)	Volume cella (μm)
Idrossapatite	n. campione	tipo	9,42	9,42	6,88	90	90	120	528,78
	10	4I	9,28	9,28	6,89	90	90	120	514,17
	35	4II	9,38	9,38	6,90	90	90	120	526,11
	40	4II	9,29	9,29	6,91	90	90	120	516,59
	45	4II	9,41	9,41	6,87	90	90	120	526,45
	53	4I	9,38	9,38	6,89	90	90	120	525,27
		valore medio		9,37	9,37	6,87	90	90	120
	deviazione standard		0,06	0,06	0,04	0	0	0	4,84

Caratteristiche esterne:

Calcolo di morfologia sferica e/o ovoidale. Questi calcoli sono composti da cristalli di weddellite, ma possono esserci quantità di whewellite quale risultato di trasformazione di cristalli di weddellite, ma soprattutto importanti quantità di idrossapatite e materia organica.

Colore: variabile, dal bianco al marrone chiaro.

Dimensioni: piccole 4-10 mm.



Composizione:

Componente principale: ossalato di calcio di-idrato (COD) $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2[\text{H}_2\text{O}]$ e idrossapatite (HAP) $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
 Possibili componenti secondari: materia organica, ossalato di calcio monoidrato (che deriva dalla trasformazione di cristalli di weddellite).

Etiologia:

I fattori etiologici legati alla formazione di questo tipo di calcolo sono la presenza di cavità renali di bassa efficacia urodinamica, esistenza di pH urinario >6.5, ipercalciuria, ipomagnesuria e deficit di inibitori della cristallizzazione di sali di calcio.

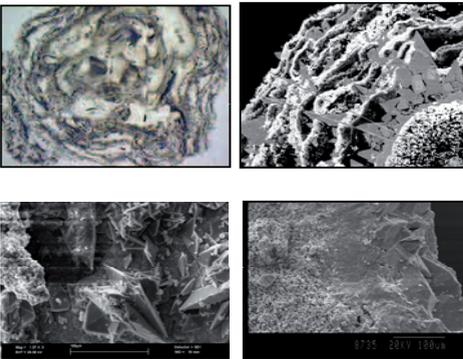
% di prevalenza:

In Basilicata 12.07%
 In bibliografia 11.2% [Grases et al., 2002]

Struttura interna:

L'interno di un calcolo di weddellite + idrossapatite, può presentare una struttura disordinata, con l'idrossapatite tra i cristalli di weddellite.

Oppure può presentare strati alternati di idrossapatite e weddellite, quest'ultimo può essere trasformato in whewellite.



Distribuzione geografica:

n. campioni: 5



Informazioni medie:

genere: M
 età: 42

Sottogruppi

GRUPPO	Descrizione	TIPO	Descrizione	SOTTOTIPO	Descrizione
4*	Weddellite + struvite - 6%			4a* - 3%	con struvite tra i cristalli
				4b* - 3%	stratificato

Composizione mineralogica:

N. campione	Whew	Wedd	Ap	Stru	UA	Cis
46		100		tr.		
59	2	54		44		
62		100		tr.		
70	8	52		40		
71		100		tr.		

Composizione chimica:

N. campione	Ca w%	K w%	Mg w%	Fe w%	Zn w%	Cu w%	Mn w%	Pb w%	Cr w%
59	16,27100	1,30900	1,45500	0,38151	0,88469	0,71700	0,169400	0,059600	0,029600
62	27,56667	0,16645	1,64967	0,38308	0,14215	0,82667	0,191667	0,114650	0,075000
media	21,919	0,738	1,552	0,382	0,513	0,772	0,181	0,087	0,052
ds	7,987	0,808	0,138	0,001	0,525	0,078	0,016	0,039	0,032

Cristallografia:

FASE	SISTEMA: tetragonale	GRUPPO: I 4/m	a (Å)	b (Å)	c (Å)	α (°)	β (°)	γ (°)	Volume cella (μm)
Weddellite	n. campione	tipo	12,37	12,37	7,36	90	90	90	1110,47
	46	4a*	12,42	12,42	7,36	90	90	90	1135,32
	59	4b*	12,35	12,35	7,39	90	90	90	1125,92
	62	4a*	12,40	12,40	7,34	90	90	90	1127,96
	70	4b*	12,34	12,34	7,37	90	90	90	1121,33
	71	4a*	12,38	12,38	7,17	90	90	90	1099,92
		valore medio		12,38	12,38	7,33	90	90	90
	deviazione standard		0,03	0,03	0,09	0	0	0	13,38

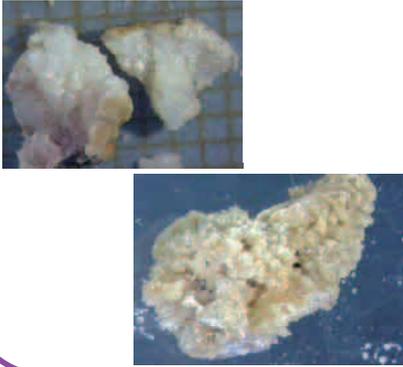
FASE	SISTEMA: ortorombico	GRUPPO: P mn2 1	a (Å)	b (Å)	c (Å)	α (°)	β (°)	γ (°)	Volume cella (μm)	
Struvite	n. campione	tipo	6,97	11,22	6,14	90	90	90	479,92	
	59	4b*	6,98	11,15	6,13	90	90	90	476,54	
	70	4b*	6,92	11,24	6,14	90	90	90	477,35	
		valore medio		6,95	11,20	6,13	90	90	90	476,95
		deviazione standard		0,04	0,06	0,01	0	0	0	0,57

Caratteristiche esterne:

Calcolo di morfologia sferica e/o ovoidale. Questi calcoli sono composti da cristalli di weddellite ed importanti quantità di struvite che può concentrarsi tra i cristalli di weddellite o a formare degli strati.

Colore: variabile, dal bianco al marrone chiaro.

Dimensioni: piccole 4-8 mm.

**Composizione:**

Componente principale:

ossalato di calcio di-idrato (COD)
 $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2[\text{H}_2\text{O}]$

e struvite $(\text{NH}_4)\text{Mg}(\text{PO}_4) \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

Possibili componenti secondari: materia organica, ossalato di calcio monoidrato (che deriva dalla trasformazione di cristalli di weddellite).

Etiologia:

I fattori etiologici legati alla formazione di questo tipo di calcolo sono la presenza di cavità renali di bassa efficacia urodinamica, esistenza di pH urinario >6.5, ipercalcemia, deficit di inibitori della cristallizzazione ed infezioni urinarie.

% di prevalenza:

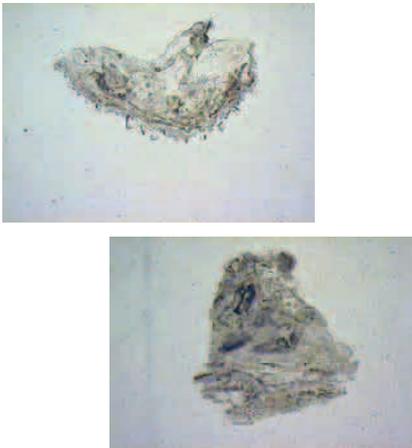
In Basilicata 6%

In bibliografia - tipologia non rilevata

Struttura interna:

L'interno di un calcolo di weddellite + struvite, può presentare una struttura disordinata, con la struvite tra i cristalli di weddellite.

Oppure può presentare strati alternati.

**Distribuzione geografica:**

n. campioni: 5

**Informazioni medie:**

genere: M

età: 49

Sottogruppi

GRUPPO	Descrizione	TIPO	Descrizione	SOTTOTIPO	Descrizione
6	Struvite - 4%				

Composizione mineralogica:

N. campione	Whew	Wedd	Ap	Stru	UA	Cis
9				100		
12				100		
20				100		

Composizione chimica:

N. campione	Ca w%	K w%	Mg w%	Fe w%	Zn w%	Cu w%	Mn w%	Pb w%	Cr w%
9	20,22321	2,61607	8,53929	0,82276	1,35883	0,34964	0,515536	0,056964	0,056786
12	12,40100	1,85300	9,32200	0,24958	0,65656	0,44800	0,099700	0,024550	0,028300
20	15,70395	1,96579	11,02632	0,19061	0,84262	0,21579	0,000000	0,035776	0,015000
media	16,109	2,145	9,629	0,421	0,953	0,338	0,205	0,039	0,033
ds	3,927	0,412	1,272	0,349	0,364	0,117	0,273	0,016	0,021

Cristallografia:

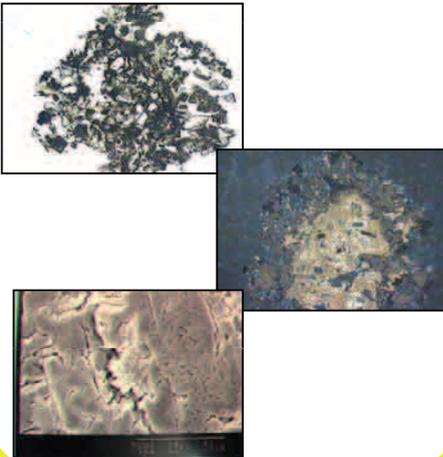
FASE	SISTEMA: ortorombico	GRUPPO: P mm2 1	a (Å)	b (Å)	c (Å)	α (°)	β (°)	γ (°)	Volume cella (μm)
Struvite	n. campione	tipo	6,97	11,22	6,14	90	90	90	479,92
	9	6	6,88	11,14	6,10	90	90	90	466,96
	12	6	6,90	11,26	6,14	90	90	90	476,48
	20	6	6,95	11,27	6,17	90	90	90	483,28
	valore medio			6,91	11,22	6,14	90	90	90
deviazione standard			0,04	0,07	0,04	0	0	0	8,19

Caratteristiche esterne:

Calcolo di morfologia coralliforme.
 Colore: variabile dal bianco al marrone chiaro.
 Dimensioni: anche molto grandi, più di 60 mm.

**Struttura interna:**

L'interno di un calcolo di struvite, presenta di solito una struttura disordinata dove si riconoscono grandi cristalli di struvite immersi nelle sfere di idrossapatite.

**Composizione:**

Componente principale: fosfato ammonico magnesiaco (struvite) $(\text{NH}_4)\text{Mg}(\text{PO}_4) \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e idrossapatite (HAP) $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
 Possibili componenti secondari: materia organica.

Etiologia:

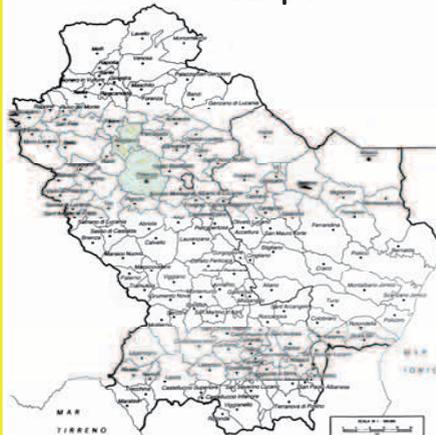
I fattori etiologici legati alla formazione di questo tipo di calcolo sono legati soprattutto alla presenza di infezioni urinarie procurate da germi ureolitici che inducono un aumento di pH >7 e della concentrazione urinaria di ammonio.

% di prevalenza:

In Basilicata 5.17%
 In bibliografia 11.8 - 16% [Daudon et al., 2004; Grases et al., 2002]

Distribuzione geografica:

n. campioni: 3

**Informazioni medie:**

genere: F
 età: 66



Sottogruppi

GRUPPO	Descrizione	TIPO	Descrizione	SOTTOTIPO	Descrizione
8	Acido Urico - 18%	8a	solo acido urico - 18%	8al - 11%	compatto
				8all - 6%	stratificato
		8b	acido urico + acido urico deidratato	8aIII - 1%	disordinato
				8bl	stratificato
8c	urati	8bil	disordinato		

Composizione mineralogica:

N. campione	Whew	Wedd	Ap	Stru	UA	Cis
1					100	
2					100	
11					100	
21					100	
23					100	
29					100	
38					100	
44					100	
55					100	
60					100	
64					100	
73					100	
74					100	
79					100	

Composizione chimica:

N. campione	Ca w%	K w%	Mg w%	Fe w%	Zn w%	Cu w%	Mn w%	Pb w%	Cr w%
2	2,06083	1,86333	0,07583	0,29867	0,24277	0,52500	0,126333	0,005517	0,026000
11	0,32184	1,02270	0,03894	0,08274	0,20963	0,58108	0,000000	0,003446	0,008784
29	3,00431	0,73942	0,01313	0,08457	0,13761	0,53488	0,000000	0,002512	0,008488
44	2,46543	1,56250	0,07735	0,32844	0,26518	0,53393	0,185893	0,002679	0,029643
55	2,50000	1,63583	0,03767	0,21358	0,20919	0,75000	0,142000	0,005200	0,026000
60	7,76702	0,91660	0,02521	0,08354	0,13317	0,56915	0,000000	0,009926	0,011170
64	2,73608	1,87500	0,06941	0,35618	0,27980	0,77333	0,172667	0,005600	0,031167
73	1,67133	1,66333	0,07050	0,26575	0,16365	0,61500	0,000000	0,003267	0,023667
74	2,28167	1,31500	0,05983	0,17708	0,19698	0,70500	0,000000	0,003750	0,014833
79	1,64500	1,14967	0,04233	0,26592	0,16865	0,76000	0,000000	0,005083	0,014333
media	2,645	1,374	0,051	0,216	0,201	0,635	0,063	0,005	0,019
ds	1,951	0,404	0,023	0,104	0,051	0,102	0,082	0,002	0,009

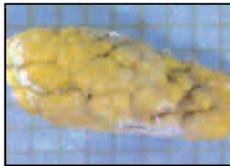
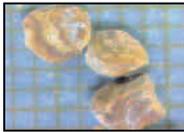
Cristallografia:

FASE	SISTEMA: monocino	GRUPPO: P2 1/n	a (Å)	b (Å)	c (Å)	α (°)	β (°)	γ (°)	Volume cella (µm)
Acido Urico	n. campione	tipo	13,12	7,40	6,21	90	91	90	602,89
	1	8al	13,13	7,34	6,24	90	90	90	599,60
	2	8alI	13,24	7,35	6,25	90	89	90	608,20
	11	8al	13,22	7,32	6,21	90	90	90	600,90
	21	8al	13,17	7,26	6,25	90	90	90	597,60
	23	8al	13,23	7,35	6,22	90	90	90	604,80
	29	8aIII	13,16	7,28	5,70	90	89	90	546,10
	38	8al	13,09	7,31	6,16	90	90	90	589,40
	44	8al	13,10	7,32	6,17	90	90	90	591,60
	55	8al	13,30	7,18	6,28	90	90	90	599,70
	60	8al	13,20	7,18	6,00	90	85	90	566,50
	64	8al	13,11	7,35	6,21	90	90	90	598,40
	73	8al	13,08	7,19	6,21	90	89	90	584,00
	74	8al	13,09	7,40	6,23	90	89	90	603,50
	79	8al	13,09	7,43	6,26	90	90	90	608,80
valore medio			13,16	7,30	6,17	90	89	90	592,79
deviazione standard			0,07	0,08	0,15	0	1	0	17,38

Caratteristiche esterne:

Calcolo di morfologia dalla sferica alla ovoidale. Colore: variabile dall'arancio al grigio.

Dimensioni: variabili 1-10 mm.



Composizione:

Componente principale: acido urico (anidro o di-idrato) $C_5H_4N_4O_3$
Possibili componenti secondari: materia organica.

Etiologia:

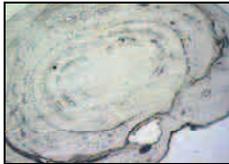
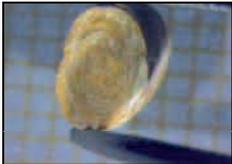
I fattori etiologici legati alla presenza di questi calcoli, sono la presenza di cavità renali di bassa efficacia urodinamica, esistenza di valori di pH < 5.5 e iperuricuria.

% di prevalenza:

In Basilicata 8.62%
In bibliografia 2.6 % [Grases et al., 2002]

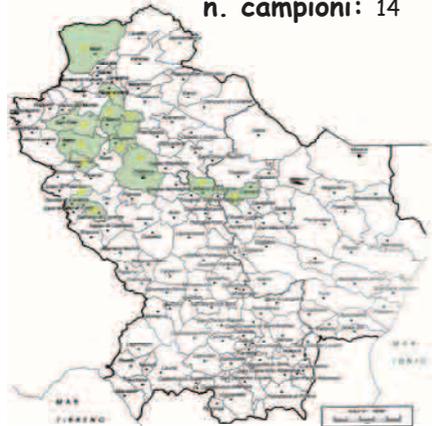
Struttura interna:

La struttura interna di un calcolo di acido urico può essere disordinata o compatta, con un nucleo centrale intorno al quale si accrescono strati (compatti o disordinati) di cristalli di acido urico.



Distribuzione geografica:

n. campioni: 14



Informazioni medie:

genere: M
età: 54

Sottogruppi

GRUPPO	Descrizione	TIPO	Descrizione	SOTTOTIPO	Descrizione
9	Whewellite + acido urico - 6%			9I - 1%	papillare
				9II - 5%	non papillare

Composizione mineralogica:

N. campione	Whew	Wedd	Ap	Stru	UA	Cis
7	56				44	
34	35				65	
36	89	2			9	
49	47	3			50	
52	55	1			44	

Composizione chimica:

N. campione	Ca w%	K w%	Mg w%	Fe w%	Zn w%	Cu w%	Mn w%	Pb w%	Cr w%
7	14,89375	1,01875	0,06507	0,10847	0,11007	0,67000	0,000000	0,031438	0,017125
36	15,74390	1,05976	0,20556	0,42099	0,18552	0,24561	0,372073	0,049866	0,017085
49	18,93150	1,40933	0,16333	0,26600	0,16532	0,67500	0,209333	0,058767	0,022667
media	16,523	1,163	0,145	0,265	0,154	0,530	0,194	0,047	0,019
ds	2,129	0,215	0,012	0,156	0,039	0,246	0,181	0,014	0,003

Cristallografia:

FASE	SISTEMA: monocino	GRUPPO: P2 1/c	a (Å)	b (Å)	c (Å)	α (°)	β (°)	γ (°)	Volume cella (μm^3)
Whewellite	n. campione	tipo	6,29	14,58	10,12	90	109	90	874,90
	7	9II	6,21	14,45	10,07	90	109	90	854,40
	34	9II	6,30	14,60	10,16	90	109	90	882,90
	36	9II	6,40	14,57	9,73	90	112	90	839,90
	49	9II	6,30	14,68	10,03	90	110	90	873,40
	52	9I	6,30	14,61	10,14	90	109	90	880,10
		valore medio		6,30	14,58	10,03	90	110	90
	deviazione standard		0,07	0,08	0,17	0	1	0	18,40

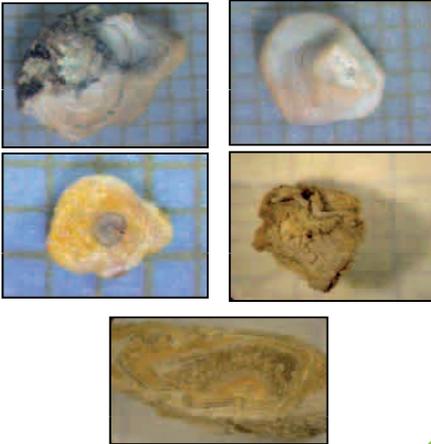
FASE	SISTEMA: monocino	GRUPPO: P2 1/n	a (Å)	b (Å)	c (Å)	α (°)	β (°)	γ (°)	Volume cella (μm^3)
Acido Urico	n. campione	tipo	13,12	7,40	6,21	90	91	90	602,89
	7	9II	12,99	7,30	6,09	90	89	90	577,40
	34	9II	13,20	7,18	6,00	90	85	90	566,50
	36	9II	13,47	7,31	6,07	90	89	90	597,50
	49	9II	13,30	7,18	6,28	90	90	90	598,70
	52	9I	13,23	7,35	6,22	90	90	90	604,80
		valore medio		13,24	7,26	6,13	90	88	90
	deviazione standard		0,17	0,08	0,11	0	2	0	16,25

Caratteristiche esterne:

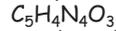
Calcolo di morfologia dalla sferica all'ovoidale.

Colore: variabile dall'arancio al marrone scuro.

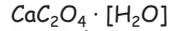
Dimensioni: variabili da 3-10 mm.

**Composizione:**

Componente principale: acido urico



ossalato di calcio monoidrato



Possibili componenti secondari:
materia organica.

Etiologia: I fattori etiologici legati alla presenza di questi calcoli, sono la presenza di valori di pH < 5.5 (per la cristallizzazione dell'acido urico), uricuria elevata e deficit di inibitori della cristallizzazione dei sali di calcio.

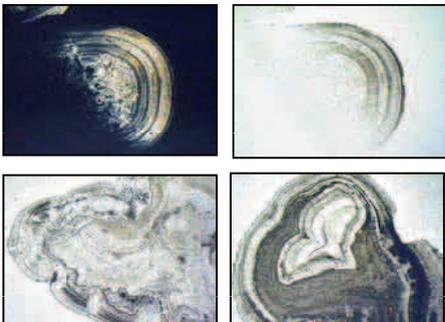
% di prevalenza:

In Basilicata 8.62%

In bibliografia 2.6 % [Grases et al., 2002]

Struttura interna:

La struttura interna di un calcolo di acido urico e whewellite si presenta con una zona interna compatta, composta da cristalli colonnari di whewellite ed un'altra zona composta da acido urico compatto o disorganizzato. Talvolta gli strati si alternano.

**Distribuzione geografica:**

n. campioni: 5

**Informazioni medie:**

genere: M

età: 55



Sottogruppi

GRUPPO	Descrizione	TIPO	Descrizione	SOTTOTIPO	Descrizione
10	Cistina - 1%				

Composizione mineralogica:

N. campione	Whew	Wedd	Ap	Stru	UA	Cis
15						100

Composizione chimica:

N. campione	Ca w%	K w%	Mg w%	Fe w%	Zn w%	Cu w%	Mn w%	Pb w%	Cr w%
15	6,19013	0,14431	0,21826	0,19663	1,40455	0,22000	0,000000	0,007700	0,010667

Cristallografia:

FASE	SISTEMA: esagonale	GRUPPO: P6 1 22	a (Å)	b (Å)	c (Å)	α (°)	β (°)	γ (°)	Volume cella (μm^3)
Cistina	n. campione	tipo	9,40	9,40	9,42	90	90	120	720,82
	15	10	9,33	9,33	9,38	90	90	120	707,11

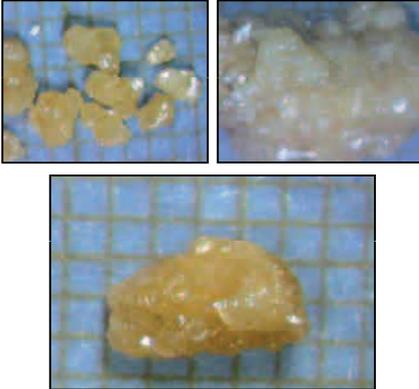


Caratteristiche esterne:

Calcolo di morfologia dalla sferica alla ovoidale.

Colore: giallo cera.

Dimensioni: variabili da 3-20 mm.



Composizione:

Componente principale: cistina
 $C_6H_{12}N_2O_4S_2$
 $(SCH_2CH(NH_2)COOH)_2$
 Possibili componenti secondari:
 materia organica.

Etiologia:

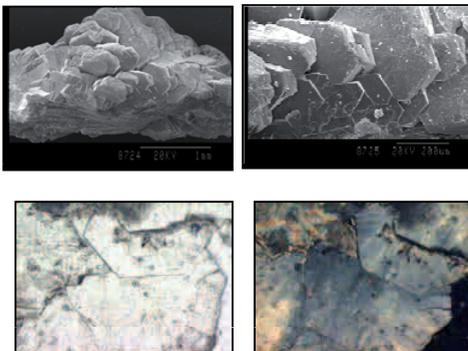
I fattori etiologici legati con la formazione di questi calcoli sono l'esistenza di valori elevati di cistinuria associati ad un pH urinario inferiore a 6 quando la cistina risulta insolubile e precipita.

% di prevalenza:

In Basilicata 1.72%
 In bibliografia 1.1 / 1.3 % [Daudon et al., 2004; Grases et al., 2002]

Struttura interna:

La struttura interna di un calcolo di cistina può essere compatta o disordinata con grandi cristalli colonnari di cistina.



Distribuzione geografica:

n. campioni: 1



n. questionario: 237
 genere: femminile
 età: 47

Illustrazione calcolo in ultima di copertina:

A descriptive and illustrative catalogue of the calculi and other animal concretion contained in the
Museum of The Royal College of Surgeons in London. Tomas Taylor, 1842.

