



## Análisis metabólico de los pacientes con litiasis renal. Papel de la hipocitraturia en la génesis de los cálculos de oxalato de calcio

*Carlos Eduardo Rodríguez, MD, Endocrinólogo, Universidad Nacional de Colombia.*

*Enrique Ardila, MD, Profesor Asociado. Unidad de Endocrinología. Departamento de Medicina Interna. Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Colombia.*

*Trabajo realizado para optar por el título de Especialista en Endocrinología de la Universidad Nacional.*

Se estudiaron las alteraciones bioquímicas asociadas con la litiasis renal recurrente en 29 pacientes y en 13 sujetos normales usados como controles. Se hizo énfasis especial en la excreción de citrato y oxalato en orina de 24 horas, para establecer su influencia en la predisposición a originar esta alteración. Al completar la evaluación metabólica pudo demostrarse que la calcemia (10.8 mg/dl vs 10.0 mg/dl,  $p < 0.001$ ), la calciuria (187.6 mg/24h vs 126.0 mg/24h,  $p < 0.005$ ) y la excreción de oxalato (0.41 nmol/24h vs 0.19 nmol/24h  $p = 0.012$ ) eran significativamente mayores en los pacientes que en los controles. La excreción de citrato fue menor en los pacientes (384 mg/24h vs 477.9) que en los controles, aunque la diferencia no alcanzó a ser significativa. Sin embargo, 27% de los pacientes tuvieron hipocitraturia. Los anteriores resultados indican que en Colombia los pacientes con litiasis renal recurrente presentan hipercalcemia, hiperocalciuria e hipocitraturia como alteraciones metabólicas asociadas con el origen de su enfermedad.

### SUMMARY

We have studied the biochemical abnormalities associated with the origin of recurrent renal stone disease in 29 patients. 13 healthy subjects were used as controls. Twenty four hours urinary excretion of citrate and oxalate was assessed specifically to know their role in predisposing to the disease. At the end of the evaluation, calcemia (10.8 mg/dl vs 10.0 mg/dl,  $p < 0.001$ ), calciuria (187.6 mg/24h vs 126.0 mg/24h,  $p < 0.005$ ) and oxalate excretion (0.41 nmol/24h vs 0.19 nmol/24h  $p = 0.012$ ) were higher in patients than controls. The excretion of citrate was lower in patients (384 mg/24h vs 477.9 mg/24h) than controls, although the difference did not reach statistical significance. However, hypocalciuria was present in 27% of patients. According with the results shown here, the Colombian patients with recurrent renal stone disease have hypercalcemia, hypercalciuria and hypocitaturia as metabolic disturbances associated with the origin of their disease.

### INTRODUCCION

La incidencia de la litiasis renal es muy elevada, calculándose que hasta 12% de la población (1) desarrollará por lo menos un episodio de cálculos renales en su vida. Como consecuencia, la morbilidad y la pérdida laboral son altas. Entre 25% y 44% de los pacientes afectados requieren hospitalización y, 6.4% a 28%, deben ser sometidos a cirugía por este motivo (2-4).

Por otra parte, el papel del tratamiento médico de los trastornos metabólicos de base está plenamente justificado, así como la prevención de la recurrencia a corto y, largo plazo (5-8); logros a los cuales se ha podido llegar después de un mejor entendimiento de la fisiopatología

de la formación de los cálculos renales (9-10).

Las alteraciones descritas en los pacientes con litiasis van desde hipercalcemia idiopática, aumento en la excreción de oxalato y ácido úrico, hasta la disminución del citrato urinario, cuya capacidad para impedir la nucleación y crecimiento de cristales de calcio ha sido plenamente demostrada (16-18).

La hipercalcemia se define como una excreción urinaria en 24 horas mayor de 300 mg en hombres y de 250 mg en mujeres y se caracteriza por normocalcemia, calcio urinario basal normal (pero elevado luego de una carga del elemento -hipercalcemia hiperabsortiva-) o elevado (como en la

hipercalcemia renal), las cuales pueden ser distinguidas mediante la técnica descrita por Pak en 1975 (19).

El papel de la excreción urinaria disminuida de citrato en la patogénesis de los cálculos renales parte de los trabajos de Sabatini quien demostró la habilidad de este compuesto para formar complejos solubles con el calcio. En 1934, Boothbay y Adams mostraron que la excreción urinaria de citrato se hallaba disminuida en los pacientes con cálculos renales. Hallazgos que fueron corroborados por otros investigadores (20-21). Más recientemente Dedmon y Wrong (23) han encontrado niveles bajos de citrato urinario en pacientes con acidosis tubular renal tipo I, enfermedad caracterizada por alta incidencia de

nefrocalcinosis. En algunos de los cuales la terapia alcalinizante aumentó los niveles de citrato y previno la nefrocalcinosis.

De acuerdo con los estudios citados por Wilson (24) dentro de la etiología de la hipocitraturia severa se encuentran desórdenes intestinales: ileostomía, abuso de laxantes y malabsorción, responsables de 26% de los casos. La acidosis renal abarca 21%, en tanto que el uso de drogas como inhibidores de la anhidrasa carbónica y cloruro de amonio equivalen a 10% y la hipocalcemia y la falla renal a 18%. El resto no tiene causa establecida hasta el momento.

Los efectos de la disminución del citrato en la formación de cálculos han sido corroborados por estudios a corto (25) y largo (26), en los cuales el reemplazo con citrato de potasio ha demostrado retardar la cristalización del oxalato de calcio y el fosfato de calcio, lo cuales son componente frecuentemente encontrados en los cálculos renales.

## MATERIAL Y METODOS

Los pacientes fueron seleccionados a partir de los enviados desde la consulta externa de medicina interna, nefrología, urología y endocrinología del Hospital San Juan de Dios, en Bogotá. Inicialmente se incluyeron 33 pacientes y 13 controles. Los criterios de inclusión fueron: Dos o más episodios de litiasis renal comprobados clínica y paraclínicamente (obtención del cálculo, evidencia radiográfica de cálculos radiopacos en Rx simples o en urografía), aceptación voluntaria para la inclusión y para ser sometidos a los estudios correspondientes, previa explicación de los mismos por parte del investigador. Los controles fueron seleccionados entre el personal de hospital y entre los familiares políticos de los pacientes (cónyuges, cuñados). Ninguno de los controles padecía enfermedad alguna, de acuerdo con el examen médico y lo

resultados de laboratorio general practicados.

Los criterios de exclusión fueron: consumo de drogas que alteraran la excreción de calcio como tiazidas, aspirina, acetazolamida, vitamina C y E y uricosúricos, en las cuatro semanas que precedieron a la iniciación del estudio. Pacientes con enfermedades que predisponen a la formación de cálculos (obstrucción del tracto urinario, infección urinaria actual o recurrente, vejiga neurogénica, neoplasias locales o sistémicas etc.) y pacientes que rehusaran la valoración completa.

Los exámenes generales fueron practicados de acuerdo con los métodos paraclínicos de rutina. Los electrolitos se midieron utilizando la técnica automatizada de detección con electrodos, el ácido úrico por el método de la uricasa, la creatinina por un método disponible comercialmente (Serapak). El calcio sérico y urinario fueron determinados por medio de absorción atómica, técnica que, brevemente, utiliza una dilución de orina o suero en una solución de lantano al 0.5 ó 0.1 N, respectivamente, y determinación en un espectrofotómetro Perkin Elmer, a una longitud de onda de 422 nm. La figura 1 muestra la curva de calibración típica del ensayo. Aunque no se hicieron estudios formales de variación intra e interensayo, la medida repetida de algunas muestras demostró una variación menor de 5%. El citrato fue medido utilizando una técnica colorimétrica (Boehringer Mannheim, Alemania). Brevemente, la determinación se basa en la acción de la enzima citrato liasa sobre el ácido cítrico para producir oxaloacetato, éste por medio de la malato deshidrogenasa, produce malato más NAD, el cual es producido en cantidad equimolar con el citrato consumido. La desaparición del NAD es medida a 340 nm de longitud de onda. Debe anotarse que la estandarización de esta técnica fue

bastante difícil, ya que la enzima citrato liasa es muy inestable a temperatura ambiente y su almacenamiento puede conducir a resultados equívocos. Para evitar esto, las muestras fueron almacenadas y procesadas en grupos de diez. El oxalato fue determinado utilizando un método colorimétrico (Sigma Diagnostics). En breve, el oxalato es oxidado a CO<sub>2</sub> por medio de la enzima oxalato oxidasa, éste por medio de una peroxidasa produce un cambio de color en la tinción de indamina, la cual es detectada por el espectrofotómetro a 560 nm.

Los datos son presentados como el promedio más o menos la desviación estándar. Se utilizó la prueba de Student para datos no pareados con el fin de establecer comparaciones entre grupos. Las correlaciones se hicieron utilizando la prueba de correlación de Pearson. Una  $p < 0.05$  fue considerada estadísticamente significativa.

## RESULTADOS

Se evaluaron inicialmente 33 pacientes, de estos, cuatro no completaron la evaluación, dos porque no regresaron a consulta y dos porque no recolectaron en forma adecuada las muestras de orina de 24 horas. Finalmente, a 29 pacientes se les completaron los exámenes de laboratorio, todos ellos suspendieron los medicamentos que pudieran tener influencia sobre los parámetros de laboratorio a medir.

Las características clínicas de los sujetos

**Tabla 1.** Características demográficas de la población estudiada.

Característica	Pacientes	Controles
Número	29	13
Edad (años)	39	39
Sexo (m/f)	11/18	4/9
Episodios litiasis	3	0
Peso (Kg)	57.4	59.4
Talla (cm)	154	161
T.A.Sist.(mm Hg)	124	127
T.A.Dias.(mm Hg)	76	74

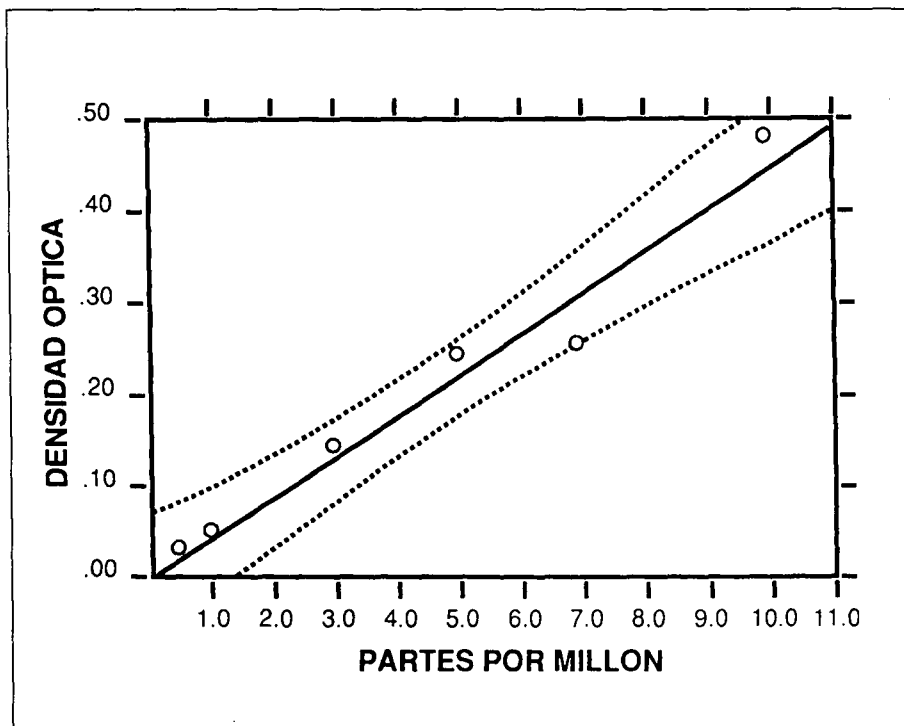


Figura 1. Curva de calibración para la determinación de calcio por absorción atómica.

estudiados se resumen en la tabla 1. La edad promedio de los pacientes fue de 39 años, 18 eran mujeres y 11 hombres (razón mujeres/hombres 1.9/1), la edad promedio de los controles fue también 39 años, 9 mujeres y 4 hombres (razón 2.2/1). El peso, talla, y tensión arterial no difirieron significativamente entre ambos grupos.

El volumen urinario fue de 1961 ml en 24 horas en los pacientes y 1877 ml en los controles. No hay diferencia significativa entre estos dos valores. La calciuria fue 187.6 mg en 24 horas en los pacientes y 126.0 mg/día en los controles, la diferencia fue significativa estadísticamente ( $p < 0.005$ ). El calcio sérico estuvo en el límite superior de lo normal en los pacientes y fue significativamente más alto que en los controles ( $p = 0.001$ ). La excreción de oxalato en 24 horas fue mayor en el grupo de pacientes (0.419 mmol vs 0.194 mmol,  $p = 0.012$ ). No se encontró diferencia significativa en la excreción de citrato en orina de 24 horas (384.8 mg vs 477.9 mg, para pacientes y

controles, respectivamente). Sin embargo, ocho pacientes (27%) tenían una excreción de citrato menor a 300 mg/24 horas, es decir, pueden considerarse como hipocitratúricos. Los demás parámetros medidos: niveles de paratormona, sodio, potasio, creatinina sérica y urinaria, ácido úrico y fósforo, no difirieron significativamente en los

Tabla 2. Resultados generales de laboratorio.

Variables	Pacientes	Controles	Significancia
Volumen urinario (ml)	1961	1877	NS
Calcemia (mg/dl)	10.8	10.0	$p < 0.001$
Calciuria (mg/24 h)	187.6	126.0	$p < 0.005$
Oxalato (mmol/24 h)	0.41	0.19	$p = 0.012$
Citrato (mg/24 h)	384.8	477.9	NS
Uricosuria (mg/24 h)	590.6	522.5	NS
Creatinuria (mg/dl)	1348	1600	NS
PTH (ng/dl)	25.0	21.5	NS
Sodio (mEq/L)	145	143	NS
Potasio (mEq/L)	4.5	4.3	NS
Acido úrico (mg/dl)	5.12	5.42	NS
Fósforo (mEq/L)	4.04	3.97	NS
Relación Calcio/Creatinuria	0.157	0.083	$p < 0.001$
Relación Citrato/Creatinuria	0.320	0.308	$p = 0.4$
Relación Acido Úrico/Creatinuria	0.443	0.360	NS

grupos. (Tabla 2). Sin embargo, vale la pena anotar que un paciente tenía hiperuricemia y dos pacientes tenían una excreción de ácido úrico elevada, por encima de 700 mg en 24 horas.

Cuando se determinó la relación de las variables calcio, citrato, oxalato y ácido úrico sobre excreción de creatinina se conservaron las diferencias estadísticas en la eliminación tanto de calcio como de oxalato.

Los análisis de Pearson no demostraron correlación entre la excreción de calcio y los demás parámetros antropométricos o de laboratorio. Se demostró una correlación negativa ( $r = -0.34$ ,  $p < 0.001$ ) entre la excreción de calcio y citrato en los controles. (Figura 2).

## DISCUSION

El presente trabajo se proyectó con el objeto de medir los factores que predisponen a la formación de cálculos renales en la población que consulta al Hospital San Juan de Dios, como reflejo de la población colombiana. El objetivo de estandarizar nuevas técnicas, como la medición de citrato y de oxalato en orina se cumplió. En nuestro conocimiento, es la primera vez que

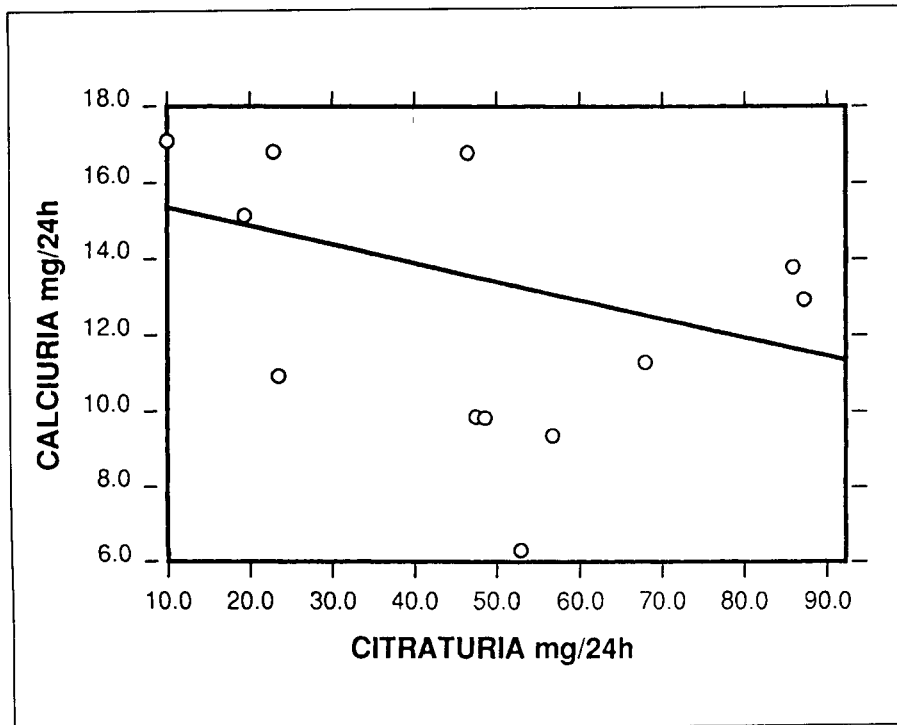


Figura 2. Relación calciuria - citraturia en 24 horas ( $r=0,34$ ;  $p<0,01$ ).

estos parámetros son estudiados en un grupo de pacientes como el nuestro. La medición del citrato es una técnica fácil y no requiere equipo especial para su realización, la única dificultad, como se mencionó previamente es la inestabilidad de algunos reactivos una vez reconstituidos, problema que se obvia si se miden simultáneamente muestras de 10 pacientes, con lo cual no se dejan remanentes de reactivos. Es de anotar que las variaciones en los valores son muy amplias, por lo cual la desviación estándar de los resultados es muy grande. No se encontró diferencia estadística en la excreción de citrato entre pacientes y controles. Sin embargo, ocho pacientes de 29 (27%) tenían citrato menor de 300mg en 24 horas, es decir, pueden calificarse como hipocitrátúricos, esta cifra corresponde a lo reportado en la literatura (20-21), en la que un 11% a 38% de pacientes con cálculos renales puede presentar el trastorno

Nuestro hallazgo de que los pacientes excretan cantidades significativamente más altas de calcio refleja la

hipercalciuria con frecuencia encontrada en ellos. Esta anomalía debe clasificarse posteriormente de acuerdo con el método de Pack. Llama la atención que la excreción de calcio es relativamente baja en los pacientes (3.26 mg/kg de peso) y más aún en los controles (2.12 mg/kg). Esto puede reflejar baja ingestión del elemento. En nuestro estudio se inició la valoración nutricional de la ingestión de calcio; sin embargo, por no haber sido completada, no se presentó dentro de los resultados. Además, como lo demuestra un estudio reciente, la cantidad de calcio ingerida puede no relacionarse con la presencia o ausencia de litiasis (29).

La presencia de dos pacientes (5 y 19) con calcio sérico elevado, en quienes existe la posibilidad de hiperparatiroidismo primario parece ser responsable de la diferencia significativa en los niveles de calcio entre los dos grupos.

La diferencia significativa en la excreción de oxalato en la orina es una anomalía que se puede presentar en

pacientes con síndromes de malabsorción (hiperoxaluria entérica) o bien por el aumento de consumo de oxalatos que hacen parte de los vegetales verdes. Ninguno de nuestros pacientes tiene antecedentes de cirugía gastrointestinal ni de diarrea crónica que haga pensar en malabsorción, por lo cual esta última probabilidad es plausible. Aunque no hubo diferencia significativa en la excreción de ácido úrico, los cuatro pacientes que presentaron hiperuricosuria pueden representar el 10% de pacientes en quienes el urato (13) es elemento constitutivo de los cálculos, que en caso de los formados por oxalato de calcio harían parte del núcleo sobre el cual, por medio del fenómeno de epitaxia, se depositarían las sales de calcio, iniciando del crecimiento mismo.

Finalmente, el hecho de que los volúmenes urinarios sean semejantes en los dos grupos se debe a que los pacientes no están consumiendo las cantidades de líquidos recomendadas con el fin de evitar el fenómeno de nucleación en la orina. De aquí que se recomiende hacer mayor énfasis en esta simple medida, que sin duda puede contribuir a disminuir la recurrencia de cálculos.

En conclusión, nuestros pacientes con litiasis renal tienen una excreción urinaria elevada de calcio y oxalato, en algunos pacientes se puede encontrar hipocitraturia e hiperuricosuria como factores sobrecargados. Por lo tanto, es importante continuar haciendo una evaluación de múltiples parámetros para determinar, individualmente, las alteraciones potencialmente tratables, que dan mayor riesgo al paciente para tener episodios recurrentes de litiasis.

#### AGRADECIMIENTOS

Al CINDEC, sin cuya financiación no se hubiera podido desarrollar este proyecto. A la Dra. Martha Duarte, profesora de Química de la Facultad de Ciencias de la Universidad

Nacional, por su guía para las determinaciones de calcio. A las Lic. Blanca Nur Yunis y Heida Castellanos, del laboratorio de la Unidad Renal del Hospital San Juan de Dios,

por las mediciones de química y electrolitos y al Lic. Mauricio Beltrán, del laboratorio central de la misma institución por las determinaciones de citrato.

Por último, agradecemos a los pacientes, pues, sin su colaboración no habría sido posible esta investigación acerca de la etiología de los cálculos renales.

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. **Sierakowski, Finlayson B, Landes RR, Sierakowski N.** The frequency of urolithiasis on hospital discharge diagnoses in the United States. *Invest Urol* 1978; 15: 438-441.
2. **Coe FL, Keck J, Norton ER.** The natural history of calcium urolithiasis. *JAMA* 1977; 238: 1519-1523.
3. **Johnson CM, Wilson DM, O'Fallon WM, et al.** Renal Stone Epidemiology: a 25-year study in Rochester, Minnesota. *Kidney Int*, 1979; 624-31.
4. **Williams RE.** Long term survey of 538 patients with upper urinary tract stone. *Br J Urol* 1963; 35: 416-437.
5. **Yendt ER, Cohan M.** Prevention of calcium stones with thiazides. *Kidney Int* 1978; 13: 397.
6. **Pak CYC, Preminger GM, Sakhae K.** Current role of medical treatment of nephrolithiasis with potassium citrate. *J Urol* 134: 11-19.
7. **Pak CYC, Preminger GM, Sakhae K.** Current role of medical treatment of nephrolithiasis: impact of improved technics of stone removal. *J Urol* 134: 6-10.
8. **Coe FL.** Prevention of Kidney Stones. *Am J Med* 1984; 71: 514-516.
9. **Coe FL.** Pathophysiology of hypercalciuria. *Am J Physiol* 1984; 247: 1-13.
10. **Lemann JR, Gray RW.** Idiopathic Hypercalciuria. *J Urol* 1989; 141: 715-719.
11. **Broadus AE.** Primary hyperparathyroidism. *J Urol* 1989; 141: 723-728.
12. **Buckalew JR.** Nephrolithiasis in renal tubular acidosis. *J Urol* 1989; 141: 731-737.
13. **Ettinger B.** Does hyperuricosuria play a role in calcium oxalate lithiasis? *J Urol* 1989; 141: 738-741.
14. **Williams HE, Wandzilak TR.** Oxalate synthesis, transport and hyperoxaluric syndrome. *J Urol* 1989; 141: 742-747.
15. **Ardila E, Lastra G.** Litiasis renal cálcica. En primer curso bianual. Departamento de Medicina Interna. Universidad Nacional. 1981: 191.
16. **Meyer JL, Thomas WE.** Growth of calcium oxalate crystals. II. inhibition by natural urinary crystal growth inhibitors. *Inves Urol* 1975: 13-36.
17. **Meyer JL, Thomas WE.** Trace metal citric acid complexes as inhibitors as inhibitors of calcification and crystal growth. *IJ Urol* 1982; 128: 1372-1375.
18. **Meyer JL, Thomas WE.** Trace metal citric acid complexes as inhibitors as inhibitors of calcification and crystal growth. II. *J Urol* 1982; 128: 1372-1375.
19. **Pak CYC, Kaplan R, Bone H.** A simple test for the diagnosis of absorptive resorptive and renal hypercalciurias. *N Engl J Med* 1975; 292:497-500.
20. **Boothby WM, Adams M.** Occurrence of citric acid in urine and body fluids. *Am J Physiol* 1934; 107:471.
21. **Kissin B, Locks MC.** Urinary citrate excretion in calcium urolithiasis. *Proc Soc Exp Biol Med* 1941; 46: 216.
22. **Welshman SG, McGeown MG.** Urinary citrate excretion in stone formers and normal controls. *Br J Urol* 1976; 48: 216.
23. **Dedmon RE, Wrong O.** The excretion of organic anion in renal tubular acidosis with particular reference to citrate. *Clin Sci* 1962; 22: 19.
24. **Wilson DM.** Clinical and laboratory approaches for evaluation of nephrolithiasis. *J Urol* 1989; 141: 770-774.
25. **Nicar JM, Peterson R, Pak CYC.** Use of potassium citrate as potassium supplement during thiazide therapy of calcium nephrolithiasis. *J Urol* 1984; 131: 430.
26. **Pak CYC, Fuller C, Sakhae K.** Long term treatment of clcium nephrolithiasis with potassium citrate. *J Urol* 1985; 134: 11.
27. **Pak CYC.** Medical managenet of nephrolithiasis in Dallas. *J Urol* 1987; 14: 461-467.
28. **Nielsen TT.** A method for enzymatic determination of citrate in serum and urine. *Scand J Clin Lab Invest* 1976; 56: 893.
29. **Curhan GC, Willet WC, Rimm EB, et al.** A prospective study of dietary calcium and other nutrients and the risk of symptomatic kidney stones. *N Eng J Med* 1993; 328: 833-838.