



Universitat
de les Illes Balears

TESIS DOCTORAL
2023

**ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DE LOS PARÁMETROS DE RIESGO DE
CRISTALIZACIÓN EN ORINA DE 12 HORAS DIURNA Y NOCTURNA**

María Concepción Mir Perelló



Universitat
de les Illes Balears

TESIS DOCTORAL

2023

**Programa de Doctorado en Investigación Translacional en Salud Pública y Enfermedades
de Alta Prevalencia**

**ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DE LOS PARÁMETROS DE RIESGO DE
CRISTALIZACIÓN EN ORINA DE 12 HORAS DIURNA Y NOCTURNA**

María Concepción Mir Perelló

Directora: María Dolores Rodrigo Jiménez

Directora: Concepción Sáez-Torres Barroso

Director: Félix Grases Freixedes

Tutor: Rafael María Prieto Almirall

Doctora por la Universitat de les Illes Balears

CERTIFICADO DE LOS DIRECTORES DE LA TESIS DOCTORAL

Dra. María Dolores Rodrigo Jiménez (1), Dra. Concepción Sáez-Torres Barroso y Dr. Félix Grases Freixedes de (1) Hospital Universitari Son Espases y (2) Universitat de les Illes Balears

DECLARAN:

Que la tesis doctoral que lleva por título *Estudio de la variabilidad de los parámetros de riesgo de cristalización en orina de 12 horas diurna y nocturna*, presentada por María Concepción Mir Perelló para la obtención del título de doctor, ha sido dirigida bajo nuestra supervisión y cumple con los requisitos necesarios para optar al título de Doctor.

Y para que quede constancia de ello firmo este documento.

María Dolores Rodrigo Jiménez

Concepción Sáez-Torres Barroso

Félix Grases Freixedes

Palma de Mallorca, 27 de enero de 2023

*"Nada en la vida debe ser temido,
solamente comprendido.
Ahora es el momento de comprender más
para temer menos"*

Marie Curie

AGRADECIMIENTOS

Al intentar hacer memoria de a quién quiero agradecer el haber llegado hasta aquí y poder presentar esta tesis, las primeras personas que aparecen en mi mente son mis padres. Gracias por ser mi ejemplo a seguir y por inculcarme la dedicación al estudio desde bien pequeña, y darme la oportunidad de sembrar esa semilla que hoy da sus frutos. Y gracias también a mi hermana, por estar siempre conmigo y por creer en mí.

Y luego ha sido otra familia, la 'científica', la que me ha acompañado en esta etapa. Primero fue Lola, quien despertó mi curiosidad por la nefrología infantil y por la investigación. Poder aprender a tu lado ha sido mi gran oportunidad, gracias por enseñarme a buscar siempre la respuesta. Y además sin ti no hubiera conocido a Curri, mi auténtica guía, gracias por ayudarme a dar forma a la respuesta. Luego, conocer a Félix, que me transmitió su entusiasmo por la litiasis renal: gracias por tu apoyo y ánimo constante. Desde entonces, la preparación de la tesis ha sido en cierta manera el hilo invisible con el cual se ha ido tejiendo mi vida profesional en sus distintas etapas y que también ha tejido una gran amistad, que sin duda ha sido lo más valioso de este período: los 'Bones': mis 'madrinas' Lola y Curri, gracias por vuestra dedicación a esta tesis, que os ha supuesto un enorme esfuerzo, que yo siempre voy a valorar y a agradecer. Guiem, gracias por tus consejos y por ayudarme las veces que ha hecho falta, que no han sido pocas. Adri, el gran fichaje, gracias por animarme a seguir y por estar siempre ahí. Esta tesis es vuestra.

Gracias a Víctor, mi 'abuelo científico' y a Joan y Lucía L., por creer en mí y darme la oportunidad de formar parte del Servicio; gracias Javier, por compartir las mismas inquietudes y a Natalia, Nuria, Paula y Cristina por vuestra disposición y ayuda con el trabajo de campo. Gracias a Jan, Iratxe y Lucía R. por vuestra compañía en el despacho y gracias a Amelia, ¡tenemos muchos retos juntas! Y al resto de compañeros del hospital, en especial a Silvia, Jose y Joana M^a y al equipo de los pases de planta. Y por supuesto a todos los que participaron en la recogida de las muestras para este estudio.

Pero, sobre todo, al hacer memoria de los inicios de este proyecto ilusionante, de todo su recorrido y de su etapa final, quien está presente en todo momento, es Andreu. Gracias por darme siempre luz, y la palabra precisa. Y también a mis hijos, Carme y Andreu, por ser mi alegría y por el inconsciente sacrificio de vuestro tiempo. Y a vuestros abuelos (mis suegros y de nuevo, mis padres) y padrinos, por vuestra ayuda incondicional.

Agradecimientos instituciones colaboradoras



Universitat
de les Illes Balears



Publicaciones derivadas de la tesis

Mir C; Rodríguez A; Rodrigo D; Sáez Torres C; Frontera G; Lumbreras J; Espinosa N; Gómez C; Costa Bauzà A; Grases F. Analysis of urine composition from split 24-h samples: use of 12-h overnight samples to evaluate risk factors for calcium stones in healthy and stone-forming children. *Journal of Pediatric Urology* (2020):16 (3)

FI: 1,58 (Q3) (D7)

ÍNDICE

1.1. Generalidades de la litiasis renal

- 1.1.1. Etiopatogenia
- 1.1.2. Proceso de cristalización urinaria
- 1.1.3. Factores etiológicos asociados a los distintos cálculos renales
- 1.1.4. Manifestaciones clínicas

1.2. Fisiología de los parámetros relacionados con la litiasis renal

- 1.2.1. Balance hídrico- volumen urinario
- 1.2.2. Equilibrio ácido-base – pH urinario
- 1.2.3. Metabolismo mineral óseo
- 1.2.4. Homeostasis de los solutos implicados en el metabolismo mineral óseo
 - Calcio
 - Fósforo
 - Magnesio
- 1.2.5. Homeostasis de otros solutos implicados en la litiasis renal
 - Citrato
 - Oxalato
 - Ácido úrico

1.3. Factores que influyen en la variación de las características de la orina en el transcurso del día

1.4. Evaluación del paciente con litiasis renal: estudio de la composición de la orina

- 1.4.1. Alteraciones metabólicas urinarias
- 1.4.2. Riesgo de cristalización urinaria
- 1.4.3 . Tipos de muestra utilizados en la práctica clínica

2.	JUSTIFICACIÓN	44
3.	HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	45
4.	METODOLOGÍA	48
5.	RESULTADOS	63

5.1. Descripción de la población del estudio

5.2. Comparación de los valores de los parámetros urinarios implicados en el riesgo de cristalización entre las muestras de orina de 12 horas diurna y nocturna en los cuatro grupos de población

5.2.1. Eliminación urinaria de creatinina

5.2.2. Valores de pH urinario

5.2.3. Diuresis y eliminación de solutos en población infantil

5.2.4. Diuresis y eliminación de solutos en población adulta

5.3. Comparación de los resultados de los parámetros urinarios relacionados con la cristalización entre la muestra de orina de 12 horas nocturna y la muestra de orina de 24 horas

5.3.1. Correlación entre los resultados de los índices urinarios en la orina de 12 horas nocturna y la orina de 24 horas

5.3.2. Comparación de los resultados reales obtenidos en orina de 24 horas con los valores de 24 horas extrapolados a partir de los valores en la muestra de 12 horas nocturna

5.3.3. Comparación de los valores de los índices urinarios entre las muestra de orina de 12 horas nocturna y las de orina de 24 horas en los cuatro grupos de población

5.3.3.1. Comparación de los índices urinarios en población infantil

5.3.3.2. Comparación de los índices urinarios en población adulta

5.3.4. Análisis de la concordancia de diagnósticos de las alteraciones metabólicas de cada sujeto en la muestra de orina de 24 horas y la muestra de orina de 12 horas nocturna en la población infantil (niños sanos y litiásicos) y adulta (adultos sanos y litiásicos)

5.3.5. Concordancia de diagnósticos en población infantil

5.3.6. Concordancia de diagnósticos en población adulta

5.4. Resultados de los parámetros urinarios en las muestras de orina de 12 horas diurna, 12 horas nocturna y 24 horas en niños sanos y adultos sanos

6. DISCUSIÓN _____ *112*

6.1. Selección de la población, tipos de muestra y variables analizadas

6.2. Comparación de los resultados de los parámetros implicados en la cristalización urinaria entre las muestras de 12 horas diurna y 12 horas nocturna

6.3. Patrón circadiano y riesgo de cristalización urinaria

6.4. Aplicación clínica del conocimiento del patrón circadiano en la eliminación de los solutos implicados en la litiasis renal

6.5. Utilidad de la muestra de orina de 12 horas nocturna para la evaluación del paciente con litiasis renal

6.6. Resultados de los parámetros urinarios en las muestras de orina de 12 horas diurna, 12 horas nocturna y 24 horas en individuos sanos

7. CONCLUSIONES _____ *146*

8. BIBLIOGRAFÍA _____ *149*

9. ANEXOS _____ *161*

Anexo I. Información para el paciente y consentimientos informados

Anexo II. Cuaderno de recogida de datos

Anexo III. Publicación

RESUMEN

El análisis de la composición urinaria es esencial para el estudio de la litiasis renal y depende de una correcta recogida y procesamiento de la muestra. Este estudio descriptivo está diseñado para comparar los parámetros urinarios en dos períodos consecutivos de 12 horas en sujetos sanos y litiásicos, con el objetivo de ver si existen diferencias en la excreción de sustancias promotoras e inhibidoras de la cristalización entre ambos períodos, que indiquen un patrón circadiano de eliminación.

Los resultados revelan que la composición de la orina no es constante a lo largo del día y que dicha variabilidad afecta a la mayoría de parámetros implicados en el proceso de cristalización. Así, en la muestra de orina de 12 horas nocturna, se observa una excreción urinaria mayor de fósforo y magnesio, y menor de citrato y ácido úrico, así como niveles más bajos de pH y de volumen urinario, en comparación con el día. Los resultados del estudio revelan también que existe un patrón circadiano de diferencias en la eliminación de ciertos solutos entre el día y la noche, y que este patrón se cumple en niños y en adultos, así como en sujetos sanos y litiásicos.

La orina recogida durante el período nocturno presenta una combinación de parámetros que le confieren un mayor riesgo de cristalización urinaria. Con el objetivo de implementar un protocolo simplificado de diagnóstico y seguimiento de la litiasis renal basado en la utilización de la muestra de orina nocturna, se evalúa la concordancia de diagnósticos de las alteraciones metabólicas urinarias entre este tipo de muestra y la de 24 horas de uso habitual. A pesar de las limitaciones del estudio, los resultados revelan que la muestra de orina de 12 horas nocturna tiene una capacidad de detección similar de dichas alteraciones y, por consiguiente, tendría interés seguir profundizando en su posible utilidad para el estudio de la litiasis. Finalmente, el estudio pone de manifiesto la necesidad de contar con valores de referencia adaptados a este tipo de muestra para una correcta interpretación de los resultados.

RESUM

L'estudi de la composició urinària és fonamental per l'avaluació de la litiasi renal i depèn d'una adequada recollida i processament de les mostres d'orina. Aquest estudi descriptiu és dissenyat per comparar els paràmetres urinaris en dos períodes consecutius de 12 hores, en subjectes sans i litiàsics, amb l'objectiu de veure si existeixen diferències en la excreció de substàncies promotores i inhibidores entre ambdós períodes, que indiquin un patró circadià d'eliminació.

Els resultats revelen que la composició urinària no es constant al llarg del dia i que aquesta variabilitat afecta la majoria de paràmetres implicats en el procés de cristal·lització. Així, en la mostra d'orina de 12 hores nocturna, s'observa una major eliminació de fòsfor i magnesi, i menor de citrat i àcid úric, així com nivells inferiors de pH i diüresi, en comparació en la mostra diürna. Per altra banda, l'estudi mostra que existeix un patró circadià de diferències en l'eliminació de determinats soluts entre el dia i la nit, que es produeix tant en nins com en adults i tant en subjectes sans com litiàsics.

L'orina recollida durant el període nocturn presenta una combinació de paràmetres que li confereixen un risc de cristal·lització urinària incrementat. Amb l'objectiu d'implementar un protocol simplificar de diagnòstic i seguiment de la litiasi renal, s'avalua la concordança de diagnòstics de les principals alteracions metabòliques urinàries entre les mostres d'orina de 24 hores i de 12 hores nocturna. Malgrat les limitacions de l'estudi, els resultats mostren que la mostra de 12 hores nocturna té una capacitat de detecció similar d'aquestes alteracions urinàries i resultaria de gran interès profunditzar en la utilitat d'aquesta mostra d'orina per l'estudi de la litiasi renal. Finalment, l'estudi posa de manifest la necessitat de disposar de valors de referència adaptats a aquest tipus de mostra per a la correcta interpretació dels resultats.

ABSTRACT

The analysis of the urinary composition is essential to the evaluation of renal lithiasis and depends on an adequate sample collection and processing. The aim of this study is to examine circadian variations of stone-promoting and stone-inhibiting factors in urine using split 24-h samples from healthy and stone-forming children and adults.

This study indicates that urine composition changes throughout the day, with daily variability in most of the parameters related to kidney stone formation. Thus, the overnight urine samples in all groups had higher levels of phosphorous and magnesium, lower volume, lower pH, and less citrate and uric acid. Furthermore, this circadian pattern in solutes excretion seems to be fulfilled in healthy and stone-forming subjects.

Urine collected during the night period presents a greater risk of urinary crystallization. In order to evaluate a simplified metabolic urinary stone study, we compared the metabolic alterations detected in the 12-h overnight urine and 24-h urine. Despite the limitations of our study, the 12-hour night-time urine sample seems to be useful in the metabolic evaluation of kidney stone disease and it would be of great interest to provide of adapted reference values.

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

La litiasis renal es una enfermedad que conlleva una elevada morbilidad y un importante coste económico. Además de que los episodios de dolor cólico y cirugías recurrentes sobre un mismo paciente son frecuentes, existe el riesgo del deterioro progresivo de la función renal y en los niños, puede afectar al correcto desarrollo de su sistema urinario (1,2).

Los notables avances técnicos en el tratamiento quirúrgico de la litiasis renal no han ido de la mano de estrategias diagnósticas y medidas preventivas eficaces, que se traduzcan en un descenso en la incidencia de esta patología. De hecho, su casuística va en aumento y cada vez el debut se observa a edades más tempranas (con una incidencia de alrededor de 8,7 casos/100.000 habitantes en menores de 18 años) y con un importante riesgo de recurrencias (3–5).

Todo ello pone de relieve la importancia de identificar las causas que favorecen la formación de los cálculos, lo cual permitirá un tratamiento médico orientado a las alteraciones estructurales o metabólicas subyacentes. En referencia a estas últimas, los protocolos de diagnóstico y tratamiento están todavía poco estandarizados, dificultando así el manejo clínico específico. A ello se añaden además las dificultades de obtención, de adecuado procesamiento de las muestras de orina y de interpretación de sus resultados, ya que las informaciones científicas en este campo son aún poco concordantes.

1.1. Generalidades de la litiasis renal

1.1.1. Etiopatogenia

La litiasis renal es una patología multifactorial, producida por la alteración de las condiciones naturales de cristalización de la orina.

En la formación de los cálculos renales están implicados tanto los factores endógenos, como los factores ambientales o adquiridos. La influencia de la carga genética parece jugar un importante papel en la litiasis (especialmente en la edad infantil) y en la gran mayoría de casos se produce por un mecanismo poligénico (6).

Entre los factores congénitos, se encuentran las malformaciones del aparato urinario y la presencia de patologías susceptibles de modificar el equilibrio en la composición de la orina, como los síndromes de malabsorción intestinal.

Entre los factores externos causantes de determinadas litiasis es de especial importancia la infección urinaria, principalmente en edad infantil. Cabe destacar que la mejoría de las condiciones higiénicas y del manejo diagnóstico y terapéutico de las infecciones del tracto urinario, ha conllevado una disminución en la incidencia de las litiasis de causa infecciosa en países desarrollados.

Por otra parte, la dieta juega un papel muy importante en la patogénesis de la litiasis y múltiples trabajos describen cómo los hábitos alimentarios pueden influir en diferentes factores relacionados con el riesgo litogénico (7–9). Los principales nutrientes que producen variaciones significativas en el riesgo de litogénesis son: agua, proteínas de origen animal, sodio, potasio, calcio, oxalato, fósforo, fitato y magnesio.

En la actualidad, el papel de la dieta en la fisiopatología de la litiasis se relaciona más con ciertos hábitos alimentarios que con la ingesta puntual de un determinado nutriente. El hábito dietético considerado de riesgo para la litiasis renal se caracteriza por un excesivo aporte de proteínas animales y sal y una ingesta escasa de líquido, fruta y vegetales (10).

Se ha generado la hipótesis de que la obesidad podría ser un factor de riesgo de litiasis renal, debido a la similitud de ambos patrones alimentarios de riesgo. Esta relación se ha establecido en población adulta (especialmente para litiasis úrica) pero no se ha podido demostrar en edad pediátrica (11,12).

Entre otros factores exógenos, cabe mencionar también los factores climáticos, estilos de vida sedentarios y enfermedades intercurrentes que favorecen la deshidratación.

1.1.2. Proceso de cristalización urinaria

El proceso de cristalización urinaria depende de factores propios de la composición de la orina y también de factores urodinámicos. Respecto a la composición urinaria, destacan fundamentalmente el balance entre sustancias promotoras e inhibidoras de la cristalización, el pH y la presencia de otras sustancias nucleantes que facilitan la formación de los cristales.

Los promotores de la cristalización son los componentes mayoritarios de los diferentes tipos de cálculos y principalmente son calcio, fósforo, ácido úrico, oxalato y cistina. Por otra parte, los inhibidores de la cristalización son sustancias que, debido a su estructura química, interaccionan con el núcleo o las caras del cristal e interfieren notablemente en su formación. Además, pueden actuar como complejantes del calcio, inhibiendo la saturación urinaria de sales cálcicas. Los más importantes para las sales cálcicas son el citrato, el magnesio y el fitato, además de un grupo de glicoproteínas y glucosaminoglicanos; en cambio, para las sales úricas el más importante es la teobromina (7,13,14).

El valor del pH puede modificar el grado de saturación de la orina, no a través de variar la concentración de las sustancias sino modificando su grado de solubilidad. Existen otros nucleantes heterogéneos que facilitan la formación de cristales, tales como los residuos celulares, los agregados proteicos, las bacterias o los epitelios renales alterados. Además, cabe mencionar que el proceso de nucleación en la litiasis renal es principalmente de tipo heterogéneo y que tanto la hidroxapatita como el ácido úrico, son dos nucleantes heterogéneos muy efectivos del oxalato cálcico (13,14).

La orina humana se encuentra siempre sobresaturada con respecto al oxalato cálcico. En condiciones normales, no se forman cristales o bien son pequeños y se expulsan con facilidad con un flujo urinario normal. La formación de los cálculos urinarios se produce cuando se altera este equilibrio metaestable, por un volumen de orina disminuido, por el aumento en la eliminación de los promotores o disminución de los inhibidores de la cristalización (alteraciones metabólicas urinarias) o por las variaciones del pH urinario. Los solutos también pueden cristalizar con mayor probabilidad si aumenta el tiempo de permanencia de la orina en el tracto urinario.

1.1.3. Factores etiológicos asociados a los distintos cálculos renales

Los cálculos renales pueden formarse sobre las paredes renales (unidos a las papilas) y en cavidades renales. Se pueden clasificar relacionando conjuntamente la naturaleza de sus componentes mayoritarios y minoritarios, su ubicación y los factores etiológicos que los provocan. A continuación, se exponen las alteraciones observadas con más frecuencia en cada tipo, según clasificación propia del Laboratorio de Investigación en Litiasis Renal de la Universitat de les Illes Balears (tabla 1) (15).

Tabla 1. Alteraciones observadas con mayor frecuencia en cada tipo de cálculo renal.

Tipo de cálculo	Principales alteraciones observadas
Oxalato cálcico monohidrato papilar (COMp) (figura 1A)	Estrés oxidativo, hiperoxaluria, exposición a citotóxicos (fármacos, ambientales...), déficit de inhibidores de la cristalización
Oxalato cálcico monohidrato no-papilar (formado en cavidades renales) (COMc) (Figura 1B)	Déficit en la orina de inhibidores de la cristalización, oxaluria elevada, pH urinario > 6,0 (cuando se detecta hidroxapatita) o pH < 5,5 (cuando se detecta ácido úrico), existencia de cavidades con baja eficacia urodinámica
Oxalato cálcico dihidrato (COD) (Figuras 1C y 1D)	Concentración de calcio urinario elevada >170 mg/L) o hipercalcemia, déficit en la orina de inhibidores de la cristalización, pH urinario > 6,0 (cuando se detecta hidroxapatita), existencia de cavidades con baja eficacia urodinámica, obstrucción de los túbulos renales (nefrocalcinosis)
Cálculos mixtos de oxalato cálcico dihidrato e hidroxapatita (COD+HAP)	Hipercalcemia, concentración de citrato urinario descendido, hiperparatiroidismo, pH urinario > 6,0, acidosis tubular renal, existencia de cavidades con baja eficacia urodinámica.
Hidroxapatita (HA) $\text{Ca}(\text{PO}_3\text{OH})_2\text{H}_2\text{O}$ (Figura 2)	pH urinario > 6,0, déficit de inhibidores de la cristalización, acidosis tubular renal, cavidades con baja eficacia urodinámica.
Estruvita (fosfato amónico-magnesio)	Infección urinaria
Brushita $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$	pH urinario > 6,0, déficit en la orina de inhibidores de la cristalización, concentración de calcio urinario elevada, acidosis tubular renal, existencia de cavidades con baja eficacia urodinámica
Ácido úrico	pH urinario < 5,5, concentración de ácido úrico urinaria elevada, existencia de cavidades con baja eficacia urodinámica
Cálculos mixtos de oxalato cálcico y ácido úrico	Déficit en la orina de inhibidores de la cristalización, pH urinario < 5,5, concentración de ácido úrico urinario elevada, existencia de cavidades con baja eficacia urodinámica
Cistina	Hipercistinuria, pH urinario < 5,5, existencia de cavidades con baja eficacia urodinámica

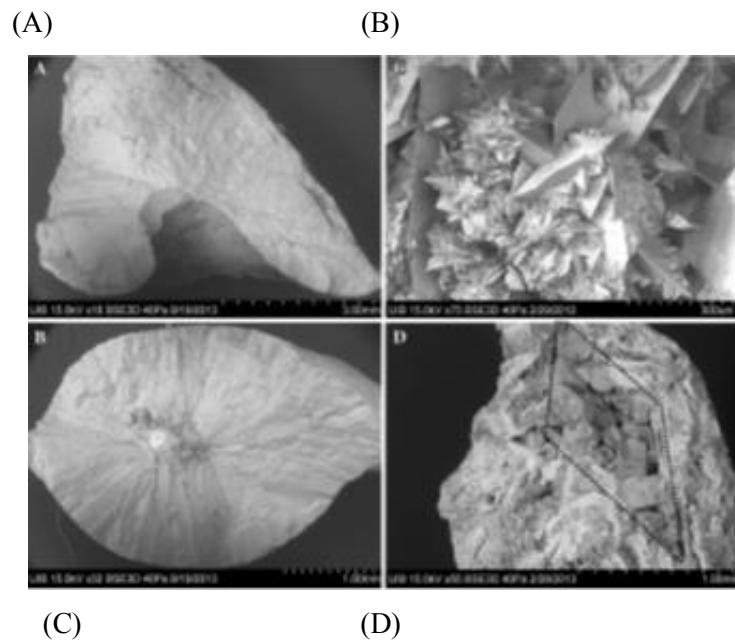


Figura 1. Cálculos de oxalato cálcico de diferentes etiologías: **(A)** Cálculo de oxalato cálcico monohidrato papilar. **(B)** Cálculo de oxalato cálcico monohidrato de cavidad. **(C)** Cálculo de oxalato cálcico dihidrato. **(D)** Cálculo de oxalato cálcico monohidrato que proviene de la transformación del dihidrato (puede observarse marcado en la imagen la “huella” de un gran cristal de dihidrato).

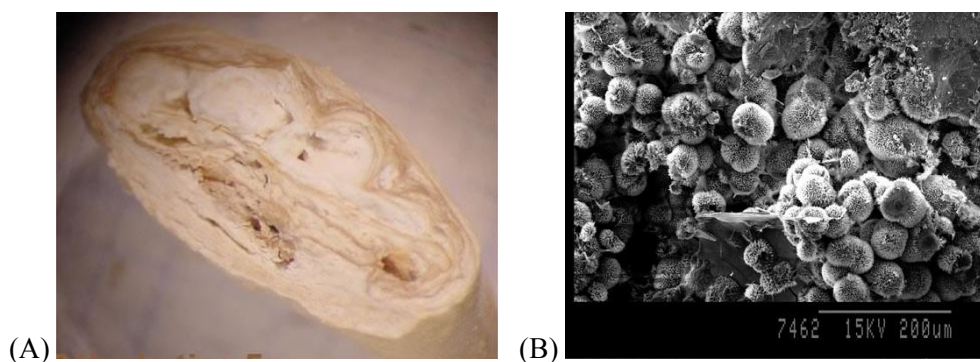


Figura 2. **(A)** Imagen obtenida con microscopía estereoscópica de la sección de un cálculo de hidroxiapatita. **(B)** Imagen de microscopía electrónica donde pueden observarse los esferulitos típicos generados por la hidroxiapatita.

1.1.4. Manifestaciones clínicas

En adultos y niños mayores, la litiasis renal se presenta habitualmente como un cólico nefrítico, que se manifiesta con dolor lumbar irradiado a fosa ilíaca, periné y zona genital, que se puede asociar a clínica miccional, hematuria, náuseas y vómitos. Los niños pre-escolares y lactantes pueden presentar sintomatología menos específica, que puede condicionar el retraso diagnóstico, como irritabilidad, vómitos, dolor abdominal, disuria o infección del tracto urinario (16).

En otros casos nos podemos encontrar con pacientes con alteraciones metabólicas urinarias que presentan algunas de las manifestaciones clínicas de la litiasis renal, en ausencia de cálculo renal objetivado en las pruebas de imagen o expulsado espontáneamente. Esta entidad se denomina prelitiasis y tiene especial importancia en la infancia (17). La prelitiasis frecuentemente se asocia con la presencia de antecedentes familiares de litiasis renal. Asimismo, los pacientes afectos presentan un riesgo incrementado, respecto a la población general, de padecer litiasis renal a lo largo de su evolución.

1.2. Fisiología de los parámetros relacionados con la litiasis renal

Como ya se ha comentado, diferentes factores están implicados en la sobresaturación de la orina, destacando el menor volumen urinario, el exceso de promotores de la cristalización (principalmente calcio, fósforo, oxalato y ácido úrico) el defecto de los inhibidores (especialmente magnesio y citrato) y las variaciones extremas del pH urinario.

Para entender la regulación que el organismo ejerce sobre estos parámetros urinarios, es importante conocer los mecanismos fisiológicos implicados en el transporte de agua y moléculas en el intestino y en el riñón y su interacción con el metabolismo óseo (18-21). Cabe destacar que existen transportadores y canales que ejercen una acción fundamental tanto en la absorción intestinal como en la reabsorción y secreción renal de los solutos relacionados con la

litiasis renal. Se encuentran controlados por mediadores sistémicos y por gradientes electroquímicos y actúan en muchos casos de forma similar a nivel intestinal y renal (22,23).

En el intestino se absorbe la mayor parte del agua, azúcares, minerales, vitaminas hidrosolubles, productos derivados de la digestión de proteínas, grasas e hidratos de carbono. Esta absorción puede disminuir notablemente si se ingieren sustancias que aceleran la velocidad de tránsito intestinal, como la fibra dietética o los laxantes (18).

Por otra parte, el riñón regula el medio interno mediante diferentes mecanismos de filtración, reabsorción y excreción de sustancias, de cuya acción depende el resultado final de la composición de la orina (19).

Tras la filtración glomerular, en el túbulo proximal se recuperan de forma prácticamente total la glucosa, los aminoácidos y las vitaminas, por mecanismos de transporte activo secundario (acoplados con el sodio). En este segmento, el agua es arrastrada osmóticamente por la reabsorción de solutos, principalmente a través de la vía paracelular.

La rama descendente o fina del asa de Henle es muy permeable al agua y tiene una baja actividad metabólica. En cambio, en la rama ascendente o gruesa del asa de Henle, que es prácticamente impermeable al agua, las células epiteliales tienen una importante actividad metabólica debida a la acción de cotransportadores y canales apicales encargados del transporte de sodio, de potasio, de cloro y de bicarbonato. Ello genera un gradiente electroquímico positivo que favorece la difusión pasiva de cationes como el calcio y el magnesio a través de canales paracelulares.

El tránsito a través de los túbulos distal y colector tiene un efecto determinante en el ajuste de iones y agua y es donde se produce además la secreción activa de hidrogeniones. Además, el riñón sintetiza hormonas con acción hemodinámica (renina, angiotensina II o prostaglandinas) y otras implicadas en la regulación del metabolismo mineral (calcitriol) (19-21).

El hueso es metabólicamente activo y cumple con funciones esenciales en la regulación del medio interno, relacionadas con el metabolismo mineral y con el equilibrio ácido-base. La matriz ósea está compuesta por una fracción orgánica, formada principalmente por colágeno. Entre las fibras de colágeno se disponen depósitos de minerales en forma de hidroxapatita, formados principalmente por fosfato tricálcico $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, carbonato cálcico (CaCO_3) y también por sodio, magnesio y citrato (24). El continuo proceso de remodelado óseo requiere un importante equilibrio entre las fuerzas de destrucción y formación ósea (figura 3) (24-26).

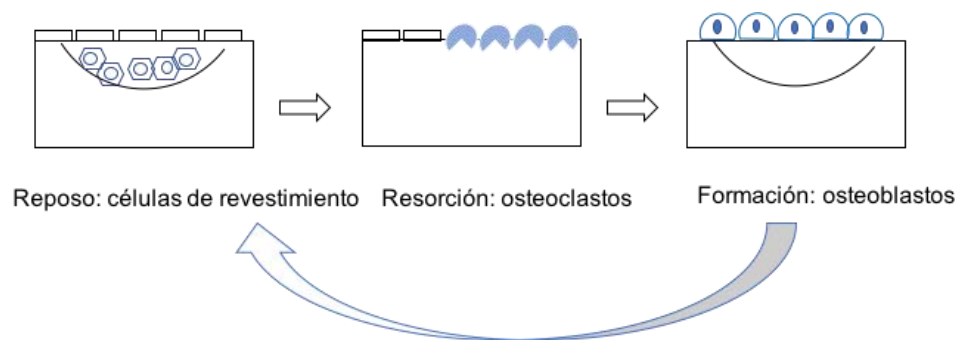


Figura 3. Proceso de remodelado óseo. Las unidades básicas de remodelado se componen por los tres tipos celulares presentes en el tejido óseo, que son los osteoblastos (formadores de las fibras colágenas del hueso) osteoclastos (responsables de la destrucción o resorción ósea) y las células maduras del hueso u osteocitos. Las células de revestimiento corresponden a osteoblastos inactivos asociados entre sí y con prolongaciones de los osteocitos.

1.2.1. Balance hídrico- volumen urinario

El riñón es el principal regulador del balance hídrico del organismo y determina el volumen urinario final. La excreción renal de agua está sometida a un minucioso control para compensar las pérdidas por otros mecanismos (fiebre, diarrea o taquipnea). Esta regulación viene determinada por la acción de la vasopresina o ADH y por el estímulo del sistema renina-angiotensina-aldosterona.

Hormona antidiurética (ADH)

La hormona antidiurética (ADH) o vasopresina se secreta en la neurohipófisis. Una vez liberada, se une a sus receptores específicos (V2) en los túbulos colectores, cuya activación induce la inserción de acuoporina 2 (AQP-2) en la membrana luminal. De este modo, se forman

canales permeables al agua que inducen su reabsorción y la formación de una orina más concentrada.

Sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAA)

El sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAA) está integrado por diferentes péptidos y enzimas que conducen a la síntesis de la angiotensina II, la cual estimula la secreción de aldosterona. La aldosterona actúa en los túbulos distales renales, incrementando la reabsorción de sodio y de agua (21). Además, la angiotensina II tiene efecto estimulador sobre el centro de la sed hipotalámico. Así, estos dos sistemas trabajan coordinadamente para mantener el balance de agua, de tal forma que los factores que influyen sobre la secreción de ADH y renina, también lo hacen sobre la percepción de la sed, especialmente el estímulo de la hiperosmolaridad y la disminución del volumen plasmático (figura 4) (27).

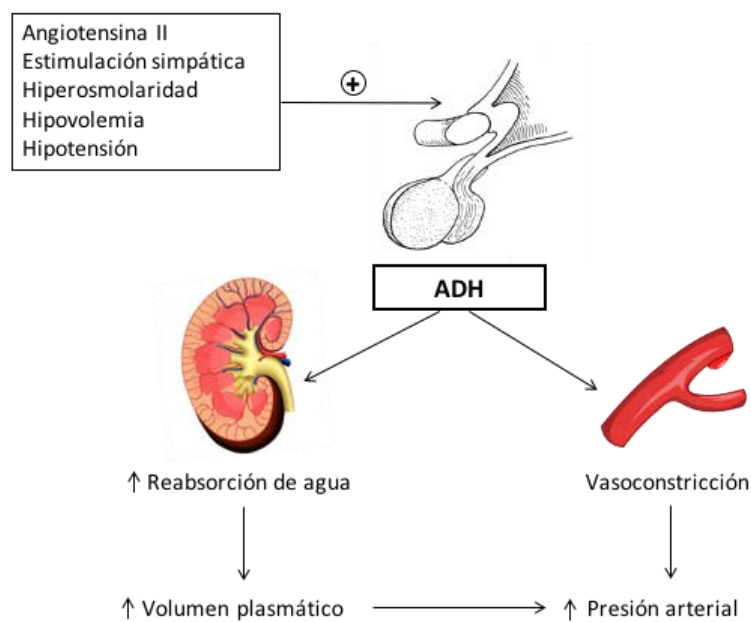


Figura 4. Regulación y acciones de la vasopresina (ADH).

ADH: hormona antidiurética, ⊕ : activación.

1.2.2. Equilibrio ácido-base – pH urinario

El pH es el logaritmo negativo de la concentración de H^+ e indica la concentración de iones de hidrógeno presentes en determinadas disoluciones, por lo que es una medida de acidez o alcalinidad de una disolución acuosa. Al ser la concentración de H^+ en plasma y orina normalmente muy baja, el pH se utiliza en la clínica para hacer referencia al estado ácido-base.

El pH fisiológico del cuerpo humano debe mantenerse dentro de unos límites muy estrechos. Esto se consigue gracias a la función coordinada de pulmón, hígado, hueso y riñón, mediante amortiguadores químicos (intracelulares y extracelulares) que responden de inmediato a los desequilibrios del estado ácido-base y de otros sistemas complejos, con efecto regulador más tardío.

El riñón es el principal órgano implicado en la regulación del equilibrio ácido-base, a través de la eliminación de la carga ácida metabólica (normal y patológica). Esta acción la realiza mediante la reabsorción del HCO_3^- filtrado y de la excreción de ácidos no volátiles, que a su vez va ligada a la regeneración de nuevo HCO_3^- (19).

El bicarbonato es filtrado continuamente hacia la luz del túbulo renal. A concentración fisiológica de bicarbonato plasmático, la gran mayoría va a ser reabsorbido. En el túbulo contorneado proximal se reabsorbe un 85-90% de la carga filtrada y el 10-15% a través de la rama gruesa del asa de Henle y de los túbulos distal y colector, con lo que sólo una pequeña proporción es excretada a través de la orina. En ambos segmentos, este transporte se realiza mediante el canal NHE3, que se transporta en la luz tubular en intercambio con iones de sodio. Además, las células tubulares tienen capacidad de generar bicarbonato, fundamentalmente a nivel del túbulo distal y colector. Este bicarbonato se reabsorbe hacia la sangre y elimina un H^+ a nivel tubular, acidificándose así la orina (figura 5).

Aproximadamente un tercio de los protones secretados van a ser titulados sobre el fosfato y el resto sobre el amoníaco, siendo por tanto mínima la cantidad de ácido libre que se elimina por la orina y que determina el valor del pH urinario (19).

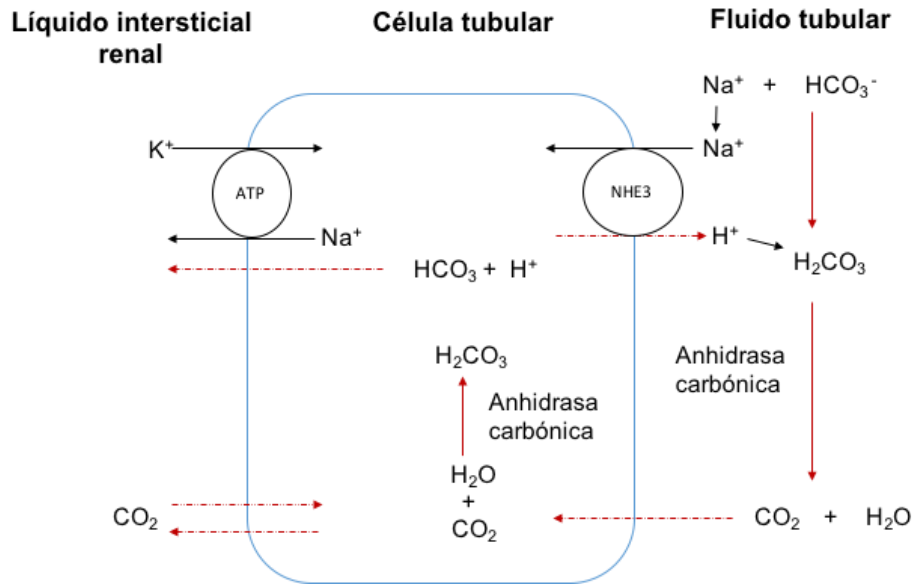


Figura 5. Representación esquemática secreción de ácido y reabsorción de bicarbonato filtrado por células tubulares proximales en el riñón. El transporte activo por ATPasa se indica por las flechas. Las flechas con trazo discontinuo indican difusión.

El hueso interviene en la amortiguación de la carga ácida mediante varios mecanismos. Inicialmente, las situaciones de acidosis metabólica disuelven el hueso mineral, con la captación de los H^+ en exceso o mediante la disociación de bicarbonato de sodio ($NaHCO_3$) y de potasio ($KHCO_3$) que se liberan al espacio extracelular. Sin embargo, el papel más importante de este órgano en el equilibrio ácido-base ocurre de una manera más tardía, cuando las modificaciones extremas del pH provocan cambios en la función de las células óseas. Esto se produce mediante la expresión de diferentes tipos de sensores para los valores de pH, situados en la membrana plasmática de los osteoclastos (28).

Así, el descenso del pH sistémico de manera prolongada aumenta la actividad de los osteoclastos y disminuye la de los osteoblastos, a favor de un incremento de la resorción ósea, que libera carbonato y fosfato cálcico al torrente sanguíneo. Este efecto, que es inicialmente positivo porque neutraliza la carga ácida sistémica, afecta de forma negativa si se mantiene en el tiempo, provocando la desmineralización del tejido óseo (29,30).

Por tanto, cualquier situación de acidosis sistémica en el organismo puede provocar el descenso de los niveles de pH urinario (31,32) la descalcificación ósea o ambas. Se estima que el consumo de una dieta normal genera 1mEq por kg y día de protones, que han de ser neutralizados por la misma cantidad de bicarbonato que se regenera en el riñón, por lo que la dieta desempeña un papel fundamental en los valores de pH urinario (31). Así, las dietas con elevado aporte de proteínas de origen animal (fuente de aminoácidos azufrados, cuya oxidación provoca liberación de H⁺) o el ayuno prolongado (que, al reducir el metabolismo de los hidratos de carbono, conlleva el aumento de la concentración plasmática de cuerpos cetónicos) reducen el pH urinario.

1.2.3. Metabolismo mineral óseo

El metabolismo de los minerales implicados en la litiasis renal (el calcio, el fósforo y el magnesio) depende de complejos sistemas transportadores que interactúan entre sí y están regulados por hormonas y receptores, enmarcados dentro de un eje funcional que engloba principalmente el intestino, el hueso y el riñón (24).

A nivel intestinal y renal, cabe destacar que existen transportadores de membrana que controlan tanto la absorción como la eliminación de los solutos relacionados con el metabolismo mineral, destacando especialmente los canales TRPV para el calcio, los canales TRPM para el magnesio y los cotransportadores Na/P para el fósforo.

Además, cabe destacar la acción de las claudinas, familia de proteínas de membrana que regulan la permeabilidad de los canales paracelulares y permiten la reabsorción selectiva de iones. Para el calcio y el magnesio, son especialmente importantes las claudinas 14, 16 y 19 (22-24). La unión de las claudinas 16 y 19 favorecen la permeabilidad del canal mientras que la claudina 14

interacciona con el dímero que forman la claudina 16 y 19, inhibiendo la permeabilidad del mismo.

A su vez, el remodelado óseo es fundamental para el mantenimiento de la homeostasis mineral. Como se ha explicado, este proceso depende del equilibrio entre las fuerzas de formación y resorción ósea, cuya regulación integra diversos factores mecánicos, hormonales, citoquinas y factores de crecimiento, que interactúan finalmente en un complejo sistema de comunicación celular denominado RANK-RANKL-OPG (figura 6) (25,26).

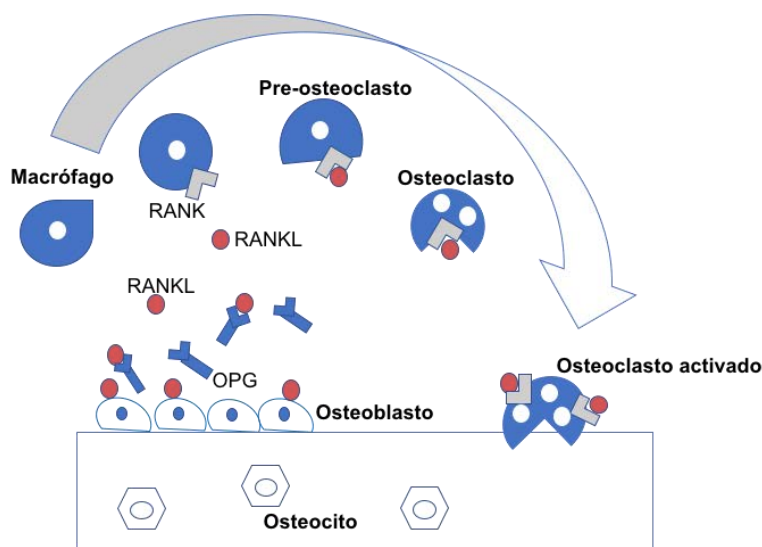


Figura 6. Esquema del sistema RANK-RANKL-OPG.

 RANK: receptor activador del NF- κ B,
  RANKL: ligando del receptor activador del NF- κ B,
  OPG: osteoprotegerina.

El RANK es un receptor que se expresa en los osteoclastos maduros y sus progenitores de la médula ósea y el RANKL o ligando de unión de RANK se produce fundamentalmente por los osteoblastos. La unión de RANKL con su receptor natural RANK promueve la adherencia de los osteoclastos al hueso y activa su función. La OPG es una proteína sintetizada por osteoblastos maduros y células estromales que actúa como receptor señuelo, impidiendo la unión de RANK con su receptor RANKL.

Las principales hormonas y receptores encargados de la regulación hormonal del metabolismo mineral óseo son el calcitriol, la parathormona (PTH), la calcitonina, el receptor sensible al calcio (CaSR) y la fosfatonina FGF23. Además, también cabe destacar la influencia de los estrógenos y de la hormona de crecimiento (GH/IG-1) (25,26).

Calcitriol

El calcitriol o 1,25-(OH)₂D₃ es el principal metabolito activo de la vitamina D₃. Es sintetizado de manera endógena en el riñón a partir de su precursor (25-hidroxi-colecalciferol o calcidiol) mediante la actividad de la 1-alfa-hidroxilasa. El calcitriol ejerce su acción uniéndose al receptor de la vitamina D (VDR). El VDR pertenece a la superfamilia de receptores intranucleares y está representado especialmente en las células óseas, intestinales y renales. Tras su unión al calcitriol, el VDR forma un heterodímero que se une a los elementos respuesta a Vitamina D (VDRE) modulando la transcripción genética de proteínas implicadas en el metabolismo mineral y en el crecimiento y diferenciación celular.

La principal respuesta fisiológica del calcitriol es estimular la absorción intestinal de calcio, ya que actúa a tres niveles: provoca el aumento en la expresión del canal TRPV6, estimula la síntesis de la proteína transportadora de calcio a nivel intracelular (calbindina) y activa la vía Ca²⁺/ATPasa y el intercambiador Na⁺/Ca²⁺ de calcio en la membrana basolateral, que permite su salida al espacio extracelular. Por otra parte, el calcitriol también interviene, aunque en menor medida, en la absorción intestinal de fósforo, mediante la activación de los transportadores de tipo Na/P de tipo II en la mucosa. En el riñón, el calcitriol incrementa la reabsorción tubular de calcio ya que, del mismo modo que ocurre a nivel intestinal, estimula la expresión del canal TRPV6, la síntesis de las calbindinas y la extrusión del calcio en la membrana basolateral por la vía Ca²⁺/ATPasa y el intercambiador Na⁺/Ca²⁺. Asimismo, la acción del calcitriol puede estimular la reabsorción de fósforo a nivel renal de una manera proporcional a la absorción de fósforo intestinal.

El complejo calcitriol-VDR interviene de manera importante en el metabolismo óseo, ya que modula tanto la expresión del RANKL en el osteoblasto, estimulando la osteoclastogénesis, como la transcripción de genes de proteínas involucradas en la diferenciación de los precursores de osteoblastos a osteoblastos maduros. Se ha demostrado

también que el calcitriol es uno de los activadores de la fosfatona FGF-23 que, como veremos a continuación, provoca fosfatúria y disminución de la absorción intestinal de fósforo.

Además, el calcitriol, a través del VDR en las glándulas paratíreas, es capaz de inhibir la síntesis y la secreción de PTH y la proliferación de las células paratiroideas. A su vez, la formación de calcitriol se estimula por la PTH y se inhibe por FGF-23 y por la hiperfosforemia (figura 6).

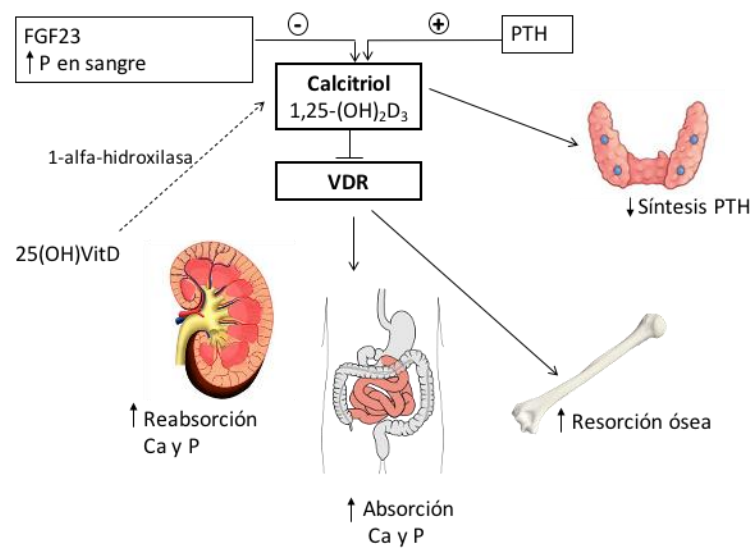


Figura 6. Regulación y acciones del calcitriol en el metabolismo mineral óseo.

PTH: parathormona, VDR: receptor vitamina D, Ca: calcio, P: fósforo. (+): activación, (-): inhibición

PTH

La PTH es una hormona polipeptídica producida por las glándulas paratiroideas, en respuesta al descenso del calcio plasmático, a través de la acción del receptor sensible del calcio (CaSR). Su principal respuesta fisiológica es el aumento de la calcemia, que se produce de forma directa (al incrementar la reabsorción renal de calcio y la resorción ósea) y de forma indirecta (al aumentar la síntesis de la 1,25-(OH)₂D₃ mediante el estímulo de la 1- alfa hidroxilasa).

En el riñón, la PTH estimula la reabsorción de calcio, disminuye la reabsorción de fósforo y aumenta la producción de calcitriol. A nivel de las células del túbulo distal, facilita la permeabilidad del canal del calcio TRPV5 en la membrana apical, aumentando la reabsorción del mismo y además crea un gradiente eléctrico favorable. Asimismo, también disminuye la expresión de la claudina 14 en el TAL (aumentando la permeabilidad del canal). La acción fosfaturica la ejerce a nivel del túbulo proximal, ya que estimula sus propios receptores en la membrana basolateral y evita la externalización de los cotransportadores Na/P tipo IIa en la membrana apical.

En el hueso, se une a receptores específicos de los osteoblastos (PTHr) y estimula la expresión del RANKL, que al unirse al RANK promueve la osteoclastogénesis a través del reclutamiento y diferenciación de los precursores de los osteoclastos y de la disminución de la acción de la osteoprotegerina (agonista del RANKL). A su vez, la síntesis de PTH está inhibida por la acción del calcitriol y por el estímulo del CaSR y está estimulada por la hiperfosforemia (figura 7).

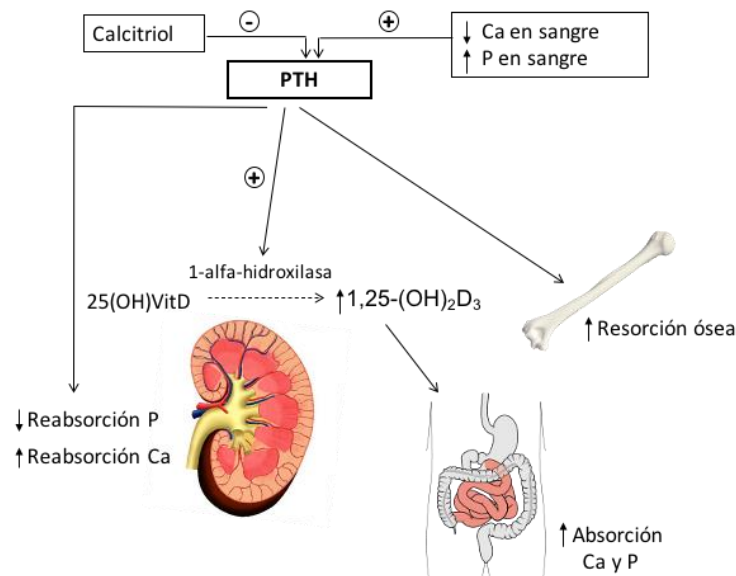


Figura 7. Regulación y acciones la PTH en el metabolismo mineral óseo.

PTH: parathormona, Ca: calcio, P: fósforo, 1,25-(OH)₂D₃: calcitriol.

⊕: activación, ⊖ : inhibición

Receptor sensible al calcio (CaSR)

El CaSR es uno de los principales reguladores de la homeostasis del calcio extracelular. Se trata de un receptor que se expresa especialmente en el tejido parotídeo, óseo y renal, captando las oscilaciones del calcio sérico. Su acción principal es la modulación de la síntesis y secreción de la PTH, que lleva a cabo de una manera directa en la glándula parotídea y de una manera indirecta, al reducir la reabsorción renal de calcio e interferir en el metabolismo óseo (Figura 8).

La activación del CaSR en la célula parotídea se produce al captar niveles elevados de calcio. Esta activación induce la movilización intracelular de calcio y el aumento de calcio citoplasmático, que secundariamente suprime la secreción de PTH. Además, en situaciones de hipercalcemia, el CaSR también disminuye la acción del calcitriol. En condiciones de hipocalcemia, el CaSR se mantiene inactivado y con ello se reduce el efecto supresor sobre la síntesis de PTH, aumentando la secreción de la misma.

En el riñón, el CaSR expresado en las células tubulares de la rama ascendente del asa de Henle (TAL) controla estrechamente la reabsorción de calcio y magnesio, a través de cambios en la permeabilidad de la vía paracelular, regulados por las claudinas. La activación del CaSR estimula la expresión de la claudina 14, provocando una inhibición de la permeabilidad del canal y por tanto la reabsorción tubular de calcio y magnesio. En el tejido óseo, el CaSR se expresa tanto en los osteoclastos (se activa con bajas concentraciones de calcio extracelular) como en los osteoblastos (proliferan y se diferencian a osteocitos maduros al detectar niveles altos de calcio).

Cabe destacar que el CaSR, además de la regulación del metabolismo mineral, también tiene efecto sobre el equilibrio ácido-base, a través de aumentar la reabsorción de bicarbonato en el túbulo contorneado distal (por activación del intercambiador apical NHE3) y de estimular la secreción de protones en el túbulo colector.

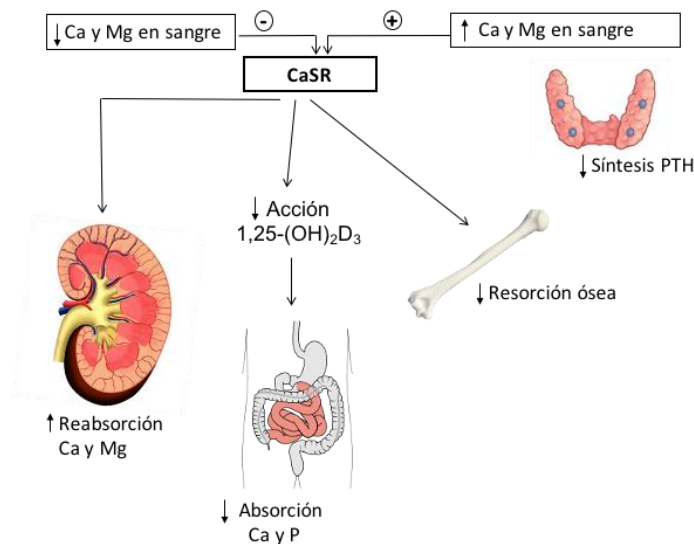


Figura 8. Regulación y acciones del CaSR en el metabolismo mineral. CaSR: receptor del calcio, PTH: parathormona, Ca: calcio, Mg: magnesio, 1,25-(OH)₂D₃: calcitriol.

⊕ : activación, ⊖ : inhibición.

Fosfatona FGF23

La fosfatona FGF23 es una proteína secretada y producida por los osteocitos y los osteoblastos. Actúa uniéndose a su receptor y a su correceptor (la proteína transmembrana Klotho) que se expresa especialmente en riñones y paratiroides, pero también en hueso y cartílago.

Las acciones biológicas principales son, por una parte, el aumento de la fosfatúria, ya que disminuye la reabsorción tubular de fósforo al inhibir la acción de los cotransportadores Na/P tipo II del túbulo proximal a través del estímulo de sus propios receptores en la membrana basolateral. En el túbulo distal, tiene un efecto fundamental al aumentar la reabsorción de calcio y sodio por aumentar la permeabilidad del canal de calcio TRPV5 y la expresión del cotransportador apical NCC. Además, ejerce una importante acción contrarreguladora del calcitriol, ya que tanto disminuye su síntesis (por la inhibición de la 1-alfa-hidroxilasa) como activa su degradación (por la estimulación de la 24-hidroxilasa).

Asimismo, sobre la glándula parotídea provoca la disminución de la síntesis de PTH. A su vez, el aumento del fósforo y del calcio oral, la PTH y el calcitriol, estimulan la síntesis de FGF23 (figura 9).

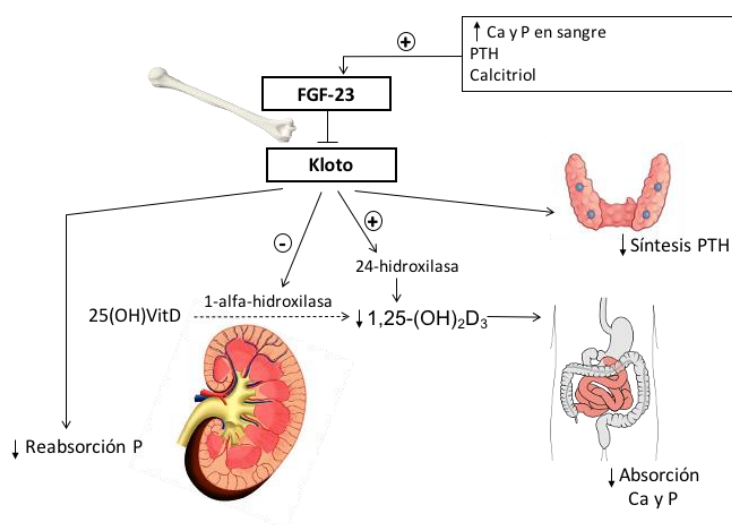


Figura 9. Regulación y acciones de la FGF23 en el metabolismo mineral óseo.

PTH: parathormona, Ca: calcio, P: fósforo, 1,25-(OH)₂D₃: calcitriol.

⊕ : activación, ⊖ : inhibición.

1.2.4. Homeostasis de los solutos implicados en el metabolismo mineral óseo

Calcio

El calcio es el mineral más abundante del organismo y es esencial para una amplia variedad de reacciones enzimáticas implicadas en la generación y mantenimiento del potencial eléctrico y en el mantenimiento de la permeabilidad de la membrana celular. El 99,3% del calcio se almacena en el hueso y esmalte, el 0,6% en los tejidos blandos y sólo el 0,1% en el líquido extracelular. El 40% del calcio total sérico se encuentra unido a proteínas y el 60% es ultrafiltrable (el 48% se encuentra de forma ionizada y el 12% unido a complejos solubles). El balance neto de calcio se realiza de una forma rápida, controlando la salida a nivel renal y de una forma más lenta, controlando la absorción intestinal y el depósito a nivel óseo (20).

El calcio se aporta en la dieta principalmente por el consumo de alimentos lácteos. Su absorción intestinal se lleva a cabo mediante dos mecanismos, uno de ellos saturable (transcelular) y otro no saturable (paracelular). El primero está regulado por la 1,25 (OH)₂ vitamina D o calcitriol, siendo el responsable del 80% de la absorción de este nutriente y se activa principalmente en

situaciones de ingesta pobre de calcio. La vía paracelular es responsable de la absorción del 20% restante del calcio, que se produce a lo largo de todo el intestino delgado, dirigida por gradientes de concentración entre el espacio luminal y el torrente sanguíneo. Este mecanismo no es saturable y es la principal vía de absorción de este nutriente cuando la ingesta de calcio es abundante (33).

El 70% de la reabsorción renal de calcio se produce principalmente en el túbulo proximal, mediante un transporte transcelular ligado a la reabsorción de sodio, cloro, fósforo y agua, mediante los transportadores TRPV6. Por otro lado, en el asa de Henle, se reabsorbe el 20% del calcio, de manera pasiva a través de la acción conjunta de las claudinas (especialmente la 14, 16 y 19) debido al gradiente positivo generado en la luz tubular por la acción de transportadores transcelulares acoplados al sodio, potasio y cloro. El 10% restante se reabsorbe en el túbulo distal y por vía transcelular, directamente regulado por la acción de la PTH y el calcitriol (22,34).

El calcio se deposita en el hueso y forma parte del componente mineral del mismo, existiendo una interacción continua entre el líquido extracelular y el hueso, aunque únicamente el 1% del calcio depositado en el hueso está sometido a la regulación del metabolismo óseo. Las modificaciones en la actividad ósea pueden hacer variar el balance neto de calcio y secundariamente, la excreción de calcio (20).

Fósforo

El fósforo es el segundo mineral más importante del organismo y es necesario para procesos metabólicos intracelulares como el metabolismo energético, la fosforilación de proteínas y el metabolismo de nucleótidos y fosfolípidos. El 85% del fósforo corporal se encuentra en el hueso y esmalte dental, el 14% en tejidos blandos y sólo el 1% en el líquido extracelular.

En la homeostasis del fósforo, el contenido del mismo en la dieta es el factor más importante a corto plazo. El fósforo se encuentra en gran cantidad de alimentos, principalmente en lácteos, carne y pescados. Es absorbido por el intestino delgado, con una biodisponibilidad muy elevada (20). La absorción intestinal se lleva a cabo por dos mecanismos, uno por transporte activo, transcelular y saturable, mediante un transportador de tipo II acoplado con el sodio (cuya actividad está regulada por el calcitriol) y otro que se produce por difusión pasiva no saturable.

La restricción en la dieta incrementa la actividad del cotransportador Na/P en la membrana apical, para aumentar rápidamente sus niveles sanguíneos.

El riñón es el principal órgano regulador de la homeostasis del fósforo, ya que reabsorbe el fósforo filtrado en función de las necesidades del organismo (en condiciones normales entre el 85-95%). En individuos con función renal normal, esta cantidad de fósforo reabsorbido determina los niveles séricos del mismo. La reabsorción renal de fósforo se produce casi exclusivamente en el túbulo proximal, mediante dos cotransportadores Na/P, que están expresados en la membrana apical de las células tubulares. Su función está controlada por la PTH y por el complejo FGF-23/Kloto, que inhiben su expresión apical por diferentes mecanismos y provocan una mayor eliminación urinaria de fósforo (35,36).

Por otra parte, el sistema esquelético es el mayor reservorio de fósforo del organismo y es el lugar en el cual se produce la fosfatona FGF23, que tiene también un papel fundamental en el transporte de este ion entre el líquido extracelular y el tejido óseo (35). Los procesos asociados a un aumento de la resorción ósea (como son la acidosis metabólica, los estados catabólicos o el reposo prolongado) liberan fósforo al espacio extracelular y aumenta la eliminación del mismo en la orina (20).

Magnesio

El magnesio es el segundo catión intracelular más común y el cuarto catión más abundante del organismo. Interviene en importantes funciones biológicas, como son el funcionamiento de múltiples enzimas, el metabolismo energético, la síntesis de ácidos nucleicos y la modulación de canales iónicos cruciales para la neurotransmisión o la conductancia cardíaca.

Únicamente el 1% del magnesio corporal se encuentra en el líquido extracelular, por lo que la concentración sérica del mismo no refleja los depósitos intracelulares de este ion, que se deposita principalmente en el hueso y los músculos. El 55% del magnesio sérico está en forma ionizada, el 13% unido a complejos solubles y el resto unido a proteínas. Aunque la concentración intracelular es muy superior a la plasmática, la concentración de magnesio iónico libre dentro de la célula es similar, ya que el magnesio intracelular está mayoritariamente unido a las proteínas y el ATP, además de secuestrado en el interior de las mitocondrias. La concentración de magnesio sérico resulta del equilibrio entre la absorción intestinal y la

excreción renal, ambas acciones realizadas por transportadores transcelulares activos y paracelulares pasivos (23).

La absorción intestinal de magnesio oscila entre un 30-50% del contenido del mismo en la dieta, aunque su participación en los niveles séricos de magnesio no está bien definida. La absorción principal del magnesio tiene lugar en el intestino delgado proximal mediante un mecanismo de difusión pasiva no saturable, a través de las uniones estrechas intercelulares y mediadas por las claudinas. El transporte transcelular activo (saturable) ocurre en las partes distales del intestino y se lleva a cabo a través de los canales-quininas de magnesio TRPM6 y TRPM7. Cuando el aporte del magnesio en la dieta es normal, la absorción activa supone un 30%, aumentando en situaciones de pobre ingesta. Los alimentos que proporcionan un mayor aporte de magnesio son los frutos secos, legumbres, cereales integrales, vegetales verdes y algunos mariscos. Debido a que muchos de estos alimentos también son ricos en fibra, cabe tener en cuenta que la presencia de ésta puede disminuir la absorción de magnesio, por el efecto quemante que ejerce el fitato sobre el magnesio a nivel intestinal.

El riñón es el verdadero órgano regulador de la homeostasis del magnesio, siendo su concentración plasmática el factor más determinante, con una rápida respuesta a las modificaciones de sus niveles sanguíneos. El 70-80% del magnesio sérico es ultra filtrado. En condiciones normales, entre el 96 y el 99% del magnesio filtrado es reabsorbido en los túbulos renales. A diferencia de otros iones, en el túbulo proximal únicamente se reabsorbe el 15-20% de la cantidad ultra filtrada, probablemente por vía paracelular y condicionado por el gradiente generado por el transporte de agua y sodio. En la rama ascendente gruesa del asa de Henle, a diferencia del calcio, se reabsorbe hasta el 65-75% del magnesio, principalmente por la acción de las claudinas 16 y 19 mediante difusión paracelular pasiva y facilitado por un gradiente eléctrico favorable por la reabsorción previa de cloruro sódico. Finalmente, el 5-10% del magnesio filtrado se reabsorbe en el túbulo contorneado distal mediante un mecanismo transcelular activo por la acción del transportador TRPM6 (20,37).

A diferencia del calcio y el fósforo, ninguna hormona ejerce una regulación directa en la homeostasis del magnesio y su acción la realizan indirectamente a través de la modificación en el fluido extracelular y en el gradiente generado en la luz tubular. Por otra parte, las alteraciones del equilibrio ácido-base producen diferentes efectos en la expresión del canal TRPM6 en el túbulo distal (la alcalosis metabólica lo estimula y la acidosis metabólica la inhibe) (37).

1.2.5. Homeostasis de otros solutos implicados en la litiasis renal

Citrato

El ácido cítrico es un ácido tricarbónico que a pH plasmático de 7,4 se encuentra en su forma desprotonada (citrato⁻³). El citrato proviene de la dieta (principalmente del consumo de cítricos) y de la producción endógena en las células. Tras la absorción intestinal, la mayor parte del citrato es rápidamente metabolizado en el hígado, aunque se estima que el 20% es filtrado directamente por el riñón. La cantidad de citrato en orina depende de los procesos de secreción en el túbulo renal y sobre éstos influye mayoritariamente el estado ácido-base del organismo.

La forma libre del citrato (citrato⁻³) es filtrada libremente por el glomérulo y reabsorbida en el túbulo contorneado proximal aproximadamente en un 65-90%. El 10-30% restante es excretado por orina, sin haber sido demostrada la secreción renal del mismo. La cantidad de citrato excretada en orina depende fundamentalmente del citrato reabsorbido y metabolizado por la célula tubular renal, más que de la cantidad de citrato filtrado. El transporte de citrato al interior de la célula tubular se realiza mediante transportadores de aniones orgánicos dependientes del sodio (NaDC1 y NaDC3).

La sobrecarga ácida incrementa la actividad del NaDC1, por lo que se estimula la reabsorción de citrato. Por otra parte, el NaDC3, expresado en la membrana basolateral de la célula tubular, es el responsable de la entrada del 30% del citrato en su forma desprotonada (cit⁻³) y no es sensible al pH (ver figura 10).

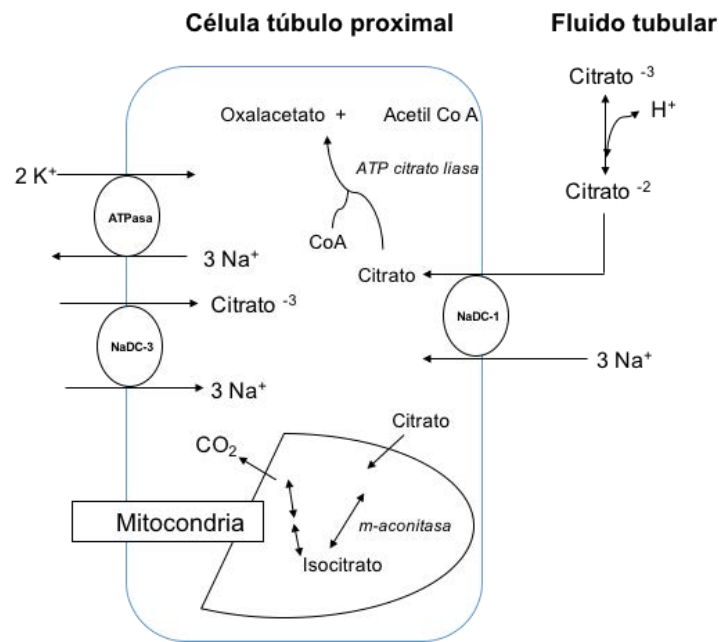


Figura 10. Representación esquemática del metabolismo del citrato. El citrato es reabsorbido desde la luz en su mayor parte por el transportador de dicarboxilos NaDC1, localizado en la membrana apical del túbulo proximal. Para ello, el citrato necesita transformarse en su forma cit^{-2} , que se consigue gracias al descenso del pH que se produce a lo largo del túbulo. Una vez el citrato es reabsorbido, se metaboliza dentro de la célula renal, mediante la actividad de las enzimas ATP citrato-liasa (ACL) y la aconitasa mitocondrial (ACONm), que lo transforma en isocitrato, para entrar en el ciclo de Krebs.

El citrato juega un papel esencial para el mantenimiento del equilibrio ácido-base del organismo. En situaciones de acidosis, se produce un incremento de la actividad de las enzimas ATP citrato-liasa (ACL) y aconitasa mitocondrial (ACONm) y con ello una disminución del citrato dentro de la célula, hecho que estimula la entrada de más citrato intracelular por activación del NaDC1. La alcalosis sistémica produce cambios opuestos, por lo que, en condiciones normales, observamos una disminución de citrato urinario tras una sobrecarga ácida y un aumento tras una sobrecarga alcalina (38). Además, como se ha explicado, el citrato forma parte del frente de mineralización del hueso y es fundamental para el ordenamiento en la disposición de hidroxapatita (39).

Oxalato

El oxalato es el éster del ácido oxálico (fig. 11) compuesto que procede principalmente de la síntesis endógena, pero también del aporte exógeno (está presente como tal en alimentos como las nueces, el chocolate, la soja, el brócoli o las espinacas, entre otros).

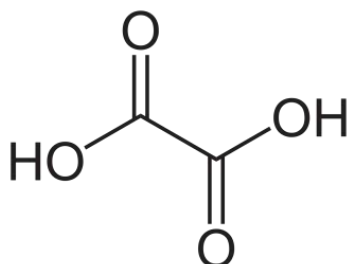


Figura 11. Estructura molecular del ácido oxálico.

En condiciones normales, aproximadamente el 95% del oxalato absorbido y producido de manera endógena se excreta en orina. Se calcula que alrededor del 75% del oxalato urinario es de producción endógena y que el 15% restante proviene de la ingesta de oxalato y de sus precursores, aunque recientemente se ha visto que la dieta puede representar hasta el 50-80% de la oxaluria en individuos con un consumo elevado de esta sustancia, siendo una de las principales causas de la hiperoxaluria secundaria (40,41).

La síntesis endógena de oxalato deriva fundamentalmente del glioxalato, molécula intermedia del metabolismo hepático de la glicina, hidroxiprolina y glicolato. El defecto en la detoxificación del glioxalato da lugar a la sobreproducción hepática de oxalato. Además, la formación del oxalato también es el resultado del metabolismo del ácido ascórbico, mediante un proceso no enzimático. Por todo ello, la ingesta elevada de los precursores del oxalato (principalmente la vitamina C, pero también las proteínas o el colágeno) pueden incrementar los niveles de oxalato. Aunque es escasa la evidencia científica en este campo, existen indicios de que, además del hígado, el riñón puede ejercer un papel en la síntesis del oxalato, porque en la célula tubular se expresan gran cantidad de las enzimas relacionadas con la síntesis del mismo (42).

El oxalato procedente de la dieta puede absorberse a través de la célula parietal a lo largo de todo el tubo digestivo, tanto por difusión pasiva como por transporte activo, regulado por la

familia de proteínas transportadoras SLC26, que se encargan de la secreción de oxalato. La absorción intestinal de oxalato depende de la cantidad que se consume en la dieta y de la biodisponibilidad del mismo, en la que influyen varios factores. El principal es la ingesta concomitante del oxalato con calcio y con otros cationes divalentes como el magnesio, que da lugar a la formación de complejos solubles que se eliminan por heces (40). Por otro lado, la disponibilidad del oxalato intestinal puede aumentar por la presencia de ácidos biliares y fibra en la mucosa colónica, que actúan como quelantes del calcio (43). Otro factor importante que puede influir en la absorción de oxalato es la presencia en el intestino de bacterias metabolizadoras del mismo, cuya deficiencia puede contribuir al aumento de absorción de esta sustancia. De entre ellas, la *Oxalobacter formigenes* es la mejor estudiada (41), describiéndose una reducción de hasta el 50% de la cantidad de oxalato detectada en las heces de los individuos colonizados por ella (44).

El oxalato no puede ser metabolizado por los mamíferos y no se liga a las proteínas por lo que el aumento en la concentración plasmática del mismo se traduce en aumento en la cantidad del mismo en orina, ya que el riñón es su vía principal de eliminación. El oxalato es filtrado directamente por el glomérulo y secretado por el túbulo, a través de las proteínas transportadoras SLC26 (45).

Ácido úrico

El ácido úrico (figura 12) es un componente orgánico que se sintetiza fundamentalmente en el hígado, siendo el producto final del metabolismo de las purinas de origen endógeno y exógeno.

La producción endógena es relativamente constante, resultante del metabolismo de las purinas y de los ácidos nucleicos. En cambio, el aporte exógeno procede de la cantidad de purina consumida en la dieta, por lo que se incrementa con el consumo de carnes, pescados y mariscos.

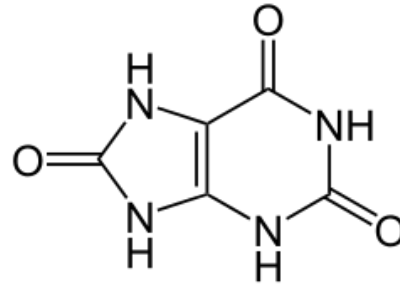


Figura 12. Estructura molecular del ácido úrico.

En condiciones normales, el metabolismo del ácido úrico es insignificante en las células, por lo que, para mantener el equilibrio interno, debe ser eliminado intacto por el intestino y el riñón. Alrededor del 70-75% de la eliminación del ácido úrico se realiza mediante excreción renal, siendo el riñón el principal responsable de la homeostasis de esta sustancia. La filtración del ácido úrico circulante es casi completa, ya que menos de un 5% se encuentra unido a proteínas plasmáticas.

El metabolismo renal del ácido úrico consiste en un sistema complejo basado en cuatro mecanismos: filtración glomerular, reabsorción tubular (pre-secretora), secreción tubular y reabsorción tubular (post-secretora) de tal forma que del total del ácido úrico filtrado, el 90% se reabsorbe a nivel tubular. Los principales transportadores del ácido úrico en el túbulo renal son URAT 1 y GLUT9. El URAT 1 es altamente específico y reabsorbe el ácido úrico ultrafiltrado glomerular al intercambiarlo por aniones orgánicos intracelulares, manteniendo un balance eléctrico adecuado. Además, en situaciones de depleción de volumen se estimula la reabsorción de ácido úrico a través del transportador URAT1 (46,47).

El ácido úrico es un ácido débil. En la orina se mantiene en equilibrio con su base, el urato. El pKa para este equilibrio es 5,35, por lo que el pH es un factor determinante para la solubilidad de esta sustancia. De esta forma, en presencia de valores inferiores a 5,5, el ácido úrico permanece en su forma no disociada e insoluble, con el consiguiente riesgo de cristalización de sales úricas (37).

1.3. Factores que influyen en la variación de las características de la orina en el transcurso del día

Los parámetros asociados a la formación de la litiasis renal varían a lo largo del día, originando que la orina no tenga las mismas características en diferentes momentos, tanto en la cantidad como en la composición de la misma. Estas diferencias se deben principalmente a la influencia de factores ambientales (principalmente la dieta y la actividad física) y a los cambios fisiológicos endógenos.

La dieta influye en la composición de la orina, especialmente durante el período diurno, relacionado con la mayor ingesta de líquidos y nutrientes, que pueden determinar las diferencias en la bioquímica urinaria del día respecto a la noche (48). Ejemplo de ello son las dietas con elevado contenido en lácteos (compuestos fundamentalmente por calcio y fósforo) las dietas vegetarianas (ricas en oxalato y fósforo) o las dietas hiperproteicas (ricas en ácido úrico). Por otra parte, el ayuno prolongado es responsable del aumento de la producción de ácidos orgánicos y, por consiguiente, de una mayor acidosis metabólica. Durante la noche, a ello se le podría sumar un discreto grado de acidosis de causa respiratoria presente en determinadas fases del sueño. Como hemos explicado, en condiciones normales, la acidosis sistémica se traduce en una disminución del pH urinario, habitualmente durante el período nocturno.

Otro de los otros factores externos que puede alterar la composición urinaria es la actividad física. Cuando ésta es intensa, puede disminuir el volumen urinario (por sudor o respiración) y disminuir el pH y citrato urinarios (por el aumento del ácido láctico tras el catabolismo celular). Además, el metabolismo energético aumenta el consumo intracelular de magnesio (32). Por otro lado, la sedestación y el decúbito durante el reposo provoca la alteración del equilibrio del remodelado óseo, a favor de una mayor resorción (49,50).

Además de estos factores ambientales o externos, existen modificaciones endógenas de diversos procesos biológicos que ocurren en ritmos de aproximadamente 24 horas, denominados ritmos circadianos (del latín *circa*, que significa 'alrededor de' y *dies*, que significa 'día'). Está comprobado que estos ritmos circadianos se mantienen incluso en ausencia de los estímulos

externos y que existe un complejo sistema de ‘genes reloj’ que controlan el ritmo circadiano celular no solamente a nivel hipotalámico sino también en otros tipos de células del organismo. En relación a los parámetros implicados en la litiasis renal, estos ritmos circadianos pueden influir en los mecanismos implicados en la eliminación urinaria de agua y de determinados solutos (51-53).

Habitualmente, el ritmo circadiano de diuresis hace que la producción de orina nocturna sea inferior a la del día y ello es consecuencia de la actividad de las hormonas que regulan la excreción de agua libre, de las diferencias en la excreción de solutos y de las variaciones del filtrado glomerular.

Está descrito un pico de excreción de vasopresina alrededor de las 04 h y una mayor actividad de la renina plasmática, de la angiotensina II y de la aldosterona a las 06 h, con nadir en las últimas horas de la tarde y por noche (53).

Además, se han descrito oscilaciones en el filtrado glomerular (medido con el aclaramiento de inulina y creatinina) con un pico de aclaramiento aproximadamente a las 14-15 h y un valle en mitad de la noche (04 h) (54). Se desconoce el significado fisiológico de estos ajustes del filtrado glomerular, pero se presume que responde a la necesidad de eliminar más volumen de orina en los períodos de mayor actividad, cuando el consumo de agua es mayor (55).

Por otro lado, diferentes publicaciones señalan que la excreción renal de H⁺ presenta una variación circadiana en humanos, provocando que la orina de la noche sea más ácida que la diurna. Esta variación es probablemente secundaria al ayuno prolongado durante el período nocturno. En este aspecto, en experimentos realizados en ratas se han encontrado picos de expresión del transportador Na/H⁺ (NHE3), que reabsorbe sodio y elimina protones hacia la luz del túbulo proximal, durante la fase oscura del ciclo diario (56). Asimismo, como hemos comentado, la acidosis sistémica nocturna aumenta la reabsorción y metabolismo del citrato a nivel tubular.

Por otra parte, está descrito que los ritmos circadianos también afectan a los factores endocrinos. En relación al metabolismo mineral, se conocen variaciones circadianas en los niveles de PTH, que presenta un pico de secreción a las 16 h y otro a las 06 h (57). En cambio, se ha observado un descenso de los niveles de calcitriol entre las 00 h y las 06 h en un estudio realizado en tres poblaciones de diferentes etnias (58). Existen otras hormonas que influyen en la actividad ósea y de las cuales se han encontrado oscilaciones periódicas, como son el cortisol (que presenta un

pico de mayor secreción matutino) o la hormona de crecimiento (GH), que muestra un pico de secreción incrementado durante el sueño (que induce también la resorción ósea) (59).

Cabe tener en cuenta que los ritmos circadianos no únicamente influyen en los picos de secreción hormonal, sino también en el efecto periférico que ejercen dichas hormonas. En relación con el metabolismo óseo, recientes estudios experimentales realizados en ratas demuestran determinados genes reloj en las células óseas que se encuentran rítmicamente expresados para modular la osteoclastogénesis a través del eje RANK-RANKL-OPG (60) y este fenómeno puede contribuir al predominio nocturno de los fenómenos resorptivos (61,62).

Como hemos visto, existen múltiples causas (tanto exógenas como endógenas) que condicionan las oscilaciones que presenta la composición urinaria a lo largo del día. Esta variación de los parámetros relacionados con la litiasis renal se debe tener presente en el manejo diagnóstico y terapéutico de esta patología.

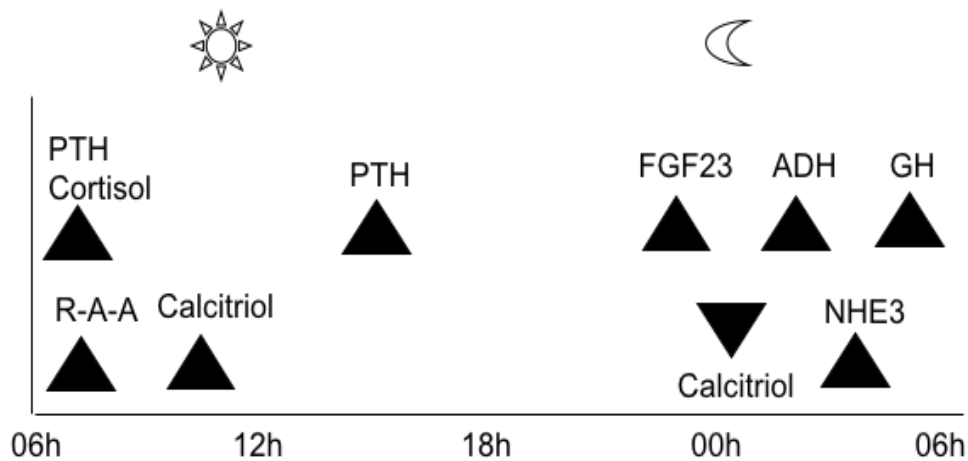


Figura 13. Representación esquemática de la variación circadiana de determinadas sustancias que regulan parámetros implicados en la cristalización urinaria. El triángulo indica el momento del día en el que se produce el pico o el descenso de cada sustancia.

PTH: parathormona, RAA: sistema renina-angiotensina-aldosterona, ADH: hormona antidiurética, GH: hormona de crecimiento, NH3: cotransportador tubular Na-H.

1.4. Evaluación del paciente con litiasis renal: estudio de la composición de la orina

El diagnóstico y seguimiento del paciente litiasico está encaminado a identificar los factores de riesgo de la formación del cálculo renal, asociados tanto a las malformaciones urológicas e infecciones urinarias como a la bioquímica urinaria.

Para su evaluación precisamos de una adecuada anamnesis, que incida en la presencia de antecedentes familiares de litiasis renal y de patologías que se relacionen con la formación de cálculos, como las anomalías estructurales renales, síndromes malabsortivos o fibrosis quística. También se deben evaluar los hábitos dietéticos, los estilos de vida y la ingesta de fármacos.

Las exploraciones complementarias deben incluir la realización de estudios radiológicos, cultivo de orina y estudio metabólico en sangre y orina (16,63). Si se dispone de la muestra y de un laboratorio especializado, el estudio de la composición del cálculo tiene un gran valor para conocer la etiopatogenia del proceso.

El análisis metabólico urinario pretende detectar los parámetros de riesgo de cristalización urinaria. Resulta fundamental tanto para el diagnóstico etiológico de la litiasis como para el seguimiento de los pacientes. A través del análisis de orina se puede cuantificar el volumen urinario, el pH, la excreción de sustancias promotoras de la cristalización (como el calcio, oxalato, ácido úrico, fósforo, cistina) y de las inhibidoras (como el citrato y magnesio). Todo ello con objeto de detectar las alteraciones metabólicas urinarias y los factores de riesgo de cristalización y así poderlos corregir.

Otras determinaciones de inhibidores de la cristalización, como el fitato y la teobromina, son utilizadas en el ámbito de la investigación y no están actualmente incorporadas en los protocolos de estudio clínico (14,64).

1.4.1. Alteraciones metabólicas urinarias

A continuación, se detalla la fisiopatología de las alteraciones metabólicas urinarias que con más frecuencia se asocian a la litiasis renal, así como las medidas terapéuticas recomendadas en cada caso.

Hiper calciuria

La hiper calciuria se define como la excreción de calcio urinario por encima de los valores considerados normales. Es la alteración metabólica que subyace con mayor frecuencia en la litiasis renal, especialmente la hiper calciuria idiopática (que es la que se detecta en ausencia de hiper calcemia y de otras causas conocidas de aumento de calcio urinario) (3,65).

La fisiopatología de la hiper calciuria idiopática es muy compleja, ya que implica diferentes procesos en el túbulo renal, intestino y hueso. En su aparición destacan mecanismos fisiopatológicos relacionados con la homeostasis del calcio, tales como el defecto en la reabsorción tubular (a causa de inmadurez funcional o genética) y el incremento de la absorción intestinal (debido a un aumento en la síntesis o sensibilidad al calcitriol).

Por otra parte, la hiper calciuria puede estar también condicionada por el aumento en la resorción ósea debida a la producción de diversas citocinas de origen monocitario, de prostaglandina E₂ o secundaria a la acidosis metabólica. Generalmente estos mecanismos se interrelacionan entre sí, aunque puede predominar en algunos casos el componente absorptivo o el resorptivo y esta predominancia de uno u otro puede incluso variar con el tiempo (66).

Las medidas terapéuticas para manejar al paciente con hiper calciuria se basan fundamentalmente en recomendaciones dietéticas. Estas medidas se dirigen a restringir los aportes de lácteos (500 ml/día en adultos y 2-3 raciones diarias en niños mayores de 2 años) y limitar el consumo de sal y proteína animal. Además, se recomienda aumentar el consumo de cereales integrales y legumbres (ricas en fitato), pescado azul (rico en ácidos grasos omega-3), fruta y verdura (con alto contenido en potasio y magnesio). Asimismo, se recomienda el

consumo de cítricos (por su elevado contenido en citrato) e incluso la administración de suplementos de citrato (8,9,67). La principal medida farmacológica utilizada son las tiazidas, que aumentan la reabsorción de calcio en el túbulo contorneado distal.

Hiperfosfaturia

La hiperfosfaturia es una alteración metabólica detectada con frecuencia en la litiasis renal (68,69). No encontramos ningún artículo que refiera la prevalencia de hiperfosfaturia en una población cercana a la nuestra y los valores de referencia son muy poco claros o incluso no constan en algunas guías de manejo de la litiasis renal. Estos aspectos nos llaman la atención, especialmente porque el fósforo un componente mayoritario en muchos cálculos.

El manejo terapéutico de los pacientes con hiperfosfaturia consiste en la restricción dietética de los alimentos ricos en fósforo, como la leche, el queso y las bebidas carbonatadas con ácido fosfórico (9).

Hiperoxaluria

La hiperoxaluria, en orden de frecuencia, es el tercer trastorno metabólico urinario hallado en pacientes con litiasis renal. Puede ser causada por alteraciones genéticas en las vías enzimáticas implicadas en el metabolismo del oxalato (primaria) o por un aumento en la absorción intestinal del mismo (secundaria) que es la causa más frecuentemente implicada en la génesis de litiasis oxálicas.

Como se ha explicado anteriormente, hiperoxaluria intestinal está condicionada por una mayor biodisponibilidad del oxalato en la luz intestinal (40,41). Así, el manejo de la hiperoxaluria secundaria consiste en incrementar el aporte hídrico e instaurar modificaciones dietéticas que regulen la ingesta de oxalato y calcio. Además, se recomienda aumentar el citrato urinario (para aumentar la solubilidad de las sales de oxalato cálcico) y el magnesio (como quemante intestinal de oxalato y por su efecto sinérgico en la orina con el citrato) (7).

Hiperuricosuria

La hiperuricosuria constituye uno de los trastornos metabólicos relevantes en la litiasis renal. La elevación de ácido úrico en orina puede ser secundaria al aumento de la concentración plasmática del mismo (lisis tumoral, errores innatos del metabolismo, exceso de ingesta proteica) o producirse por alteraciones tubulares de causa genética que provoquen un aumento en la pérdida renal de esta sustancia.

La incidencia de la hiperuricosuria es mayor en adultos, en cuyo caso suele ser secundaria a factores dietéticos o a síndrome metabólico. En niños, en cambio, suele estar asociada a defectos tubulares o al aumento del catabolismo producido por una enfermedad subyacente grave (70). Como se ha explicado, el pH es un factor determinante para la solubilidad del ácido úrico en la orina y el pKa que condiciona este equilibrio es 5,35.

La hiperuricosuria de causa no endógena (que es la forma que predomina en los pacientes con litiasis) debe manejarse incrementando el aporte líquido, alcalinizando la orina y disminuyendo el aporte de sal y proteínas animales (9). Otras opciones farmacológicas serían el alopurinol (si existe hiperuricemia) el citrato (como alcalinizante de la orina) y la teobromina (como inhibidor de la cristalización).

Hipomagnesuria

La hipomagnesuria está presente en alrededor del 7% de los pacientes con litiasis. El magnesio actúa como protector de la formación de los cálculos renales por varios mecanismos (64). En primer lugar, porque actúa como quemante, al unirse al oxalato a nivel intestinal y renal. Además, está demostrado que ejerce una acción sinérgica con el citrato, potenciando su efecto inhibitorio frente a la cristalización de sales cálcicas.

El manejo de la hipomagnesuria consiste en promover una dieta rica en alimentos con elevado contenido en magnesio, como los cereales integrales y los frutos secos, así como la ingesta de suplementos de magnesio.

Hipocitraturia

La hipocitraturia es la segunda alteración metabólica más frecuente en los pacientes con litiasis renal e incluso algunas series la describen como primera, con cifras que varían entre un 30-50% (71,72).

El citrato actúa como complejante del calcio urinario e inhibe la nucleación, el crecimiento y la agregación de los cristales de oxalato y fosfato cálcico (38).

Aunque la hipocitraturia puede ser debida a un trastorno primario en el manejo renal del citrato, lo más frecuente es que sea secundaria a situaciones de acidosis sistémica, que son compensadas por un aumento la reabsorción y metabolismo del citrato a nivel del túbulo proximal. Algunas de estas causas son la acidosis tubular renal distal (tipo I), la fibrosis quística, la diarrea crónica, el ayuno prolongado o la dieta con elevada carga de ácido (especialmente por el alto contenido en proteínas de origen animal) (38). En estas situaciones de acidosis prolongada, además de la hipocitraturia, encontraremos parámetros indicativos de un incremento de la resorción ósea.

El incremento del riesgo de cristalizar que provoca la escasez de citrato en orina es directamente proporcional a la intensidad de la hipocitraturia y además, varía en función de la concentración de otros solutos implicados, como el calcio. Así, como se explica más adelante, para el estudio del riesgo de formación de sales cálcicas, resulta muy útil relacionar las excreciones de ambas sustancias con la determinación del cociente calcio/citrato (71).

El manejo de la hipocitraturia se basa en la administración de citrato potásico o aumentando el consumo de cítricos (como la naranja, el limón o el pomelo) y frutas ricas en potasio (73). Por su efecto de alcalinización de la orina, el citrato también se utiliza en el tratamiento de la litiasis úrica.

1.4.2. Riesgo de cristalización urinaria

El riesgo de cristalización o riesgo litogénico es un concepto que evalúa en conjunto todos los factores implicados en este proceso, relacionando entre sí la cantidad excretada de solutos con el volumen y el pH urinario. Resulta muy útil para entender la etiopatogenia de la litiasis renal en cada paciente.

El volumen urinario bajo es uno de los trastornos más importantes asociados a la formación de la litiasis (74) y es un factor de riesgo común a todos los tipos de cálculo renal. Las recomendaciones generales acerca del volumen de diuresis adecuado en la población varían según diferentes publicaciones entre 0,8 y 1,4 ml/kg/h, siendo el valor de 1 ml/kg/h el límite más comúnmente aceptado (9,27). En pacientes con litiasis se precisa alcanzar diuresis más elevadas como parte importante del tratamiento (27,74).

Por otra parte, los cambios en el pH urinario determinan de manera importante la solubilidad de ciertas sustancias y con ello, contribuyen a la formación de cálculos renales (37,48). Así, unos valores de pH en orina superiores a 6,2 disminuyen de manera considerable la solubilidad del fosfato cálcico, favoreciendo la formación de cálculos de hidroxapatita y de brushita. Por el contrario, pH urinarios con valores inferiores a 5,5 son el principal factor de riesgo de la formación de la litiasis úrica y cistínica. Además, la presencia de cristales de ácido úrico puede actuar como nucleante heterogéneo para la formación de otro tipo de cálculos como son los de oxalato cálcico (una vez formado el núcleo del cristal) y esto puede suceder incluso en valores de pH urinarios más alcalinos (37). En el caso concreto de la infección urinaria, el incremento del pH urinario (ligado al aumento de la producción de amonio por parte de las bacterias) favorece la formación de cristales de fosfato amónico magnésico o estruvita.

Existen diversos métodos para evaluar el riesgo de cristalización urinaria (75). Entre ellos destacan los criterios propuestos por Grases, que se basan en la concentración urinaria de los promotores e inhibidores de la cristalización (76). Además, se han desarrollado programas informáticos para el análisis de la saturación de las diferentes sustancias (EQUIL) y se han descrito otros índices basados en técnicas de laboratorio (Bonn Risk Index).

Existen otras fórmulas de riesgo más sencillas y con mayor aplicabilidad clínica, como son el cálculo de los productos de actividad del oxalato cálcico y del fosfato cálcico (los cocientes $A_p\text{-CaOx-}$ y $A_p\text{-CaP-}$ respectivamente) o la medición del cociente calcio/magnesio y calcio/citrato (75).

En relación a la determinación del cociente Ca/Cit , numerosos estudios la señalan como la herramienta más útil para calcular el riesgo de cristalización urinaria (tanto en niños como en adultos) (17,71,77–80). Para la formación de sales cálcicas, un valor del cociente superior a 0,33

ha demostrado ser el parámetro (de entre los que se determinan de forma habitual en la práctica clínica) que mejor discrimina a los individuos sanos de los litiasicos (71,79). De esta manera queda reflejado que la valoración del balance entre las sustancias promotoras e inhibitoras de la cristalización es todavía más importante que evaluar cada soluto por separado, ya que es posible hallar niveles elevados del cociente Ca/Cit en individuos que no presentan hipercalcemia ni hipocitraturia. Este hecho ayuda a explicar la formación de litiasis renal en pacientes sin alteraciones metabólicas subyacentes.

Se ha constatado que la orina del final de la tarde, de la noche y de las primeras horas de la mañana posee unas condiciones de riesgo de cristalización superiores a las del resto del día, provocadas por las variaciones de la composición urinaria (78,81). Este hecho puede condicionar diferentes resultados en el análisis del riesgo de cristalización urinaria, en función del horario de recogida de la muestra.

1.4.3. Tipos de muestra utilizados en la práctica clínica

El estudio metabólico de la litiasis renal presenta notables dificultades tanto para los pacientes como para los profesionales implicados, debido a la dificultad para la recogida adecuada de las muestras de orina y a la escasez de protocolos estandarizados de procesamiento e interpretación de los resultados. La heterogeneidad del análisis de la orina entre los distintos centros del país se constató recientemente con los datos obtenidos del Registro Nacional de Litiasis Renal Pediátrica y llevó a elaborar un documento de consenso entre la Asociación Española de Nefrología Pediátrica (AENP) y la Sociedad Española de Medicina de Laboratorio (SEQC-ML) (82). Los diferentes tipos de muestra para el estudio metabólico urinario publicados en la literatura son los siguientes:

Orina de 24 horas

La orina de 24 horas es el procedimiento de estudio de orina recomendado en la gran mayoría de guías clínicas de manejo de la litiasis. Cabe mencionar que muchos autores consideran imprescindible recoger varias muestras de orina (dos o tres, en días diferentes) para poder establecer el diagnóstico de riesgo de cristalización urinaria (83–87). Ello es debido a la variabilidad intra-individual de la composición de la orina en días diferentes.

Entre las ventajas que aporta el uso de este tipo de muestra se encuentra el hecho de que se dispone de numerosos datos en relación a los valores de referencia de eliminación de solutos en la orina de 24 horas (65,88,89). Otras ventajas que ofrece en relación a las muestras de orina de micción es que está menos afectada por la influencia de la dieta o del ejercicio físico puntual, además de que aporta datos del volumen urinario del sujeto (un factor imprescindible para el estudio del riesgo de cristalización urinaria).

El principal inconveniente de la muestra de 24 horas es la dificultad en su obtención, que genera numerosos errores en la recogida, relacionados con las dificultades para llevarla a cabo durante la jornada escolar o laboral y las actividades lúdicas (90). Además, para la evaluación del riesgo de cristalización urinaria, dado que el resultado obtenido en la muestra del día entero se presenta como un promedio de las diferentes orinas que la constituyen, se pueden estar pasando por alto picos de riesgo de cristalización que sí se detectarían los diferentes periodos del día se analizaran por separado (91).

Orina de micción

Existen estudios que apoyan la utilización de esta muestra de orina para el diagnóstico de determinadas alteraciones metabólicas, especialmente la hipercalciuria (92–95). Además, existen datos sobre los valores de referencia en diferentes poblaciones étnicas de este tipo de muestra.

La principal ventaja del análisis de la orina de aislada es la facilidad de su recogida (que minimiza los errores en la toma de la muestra) además de la comodidad del usuario para adaptarla a la vida cotidiana. Sin embargo, su análisis no permite el cálculo de las excreciones urinarias en su expresión habitual (que hace referencia a un período de tiempo determinado) y no aporta datos sobre el volumen urinario, por lo que la información que aporta al clínico es incompleta. Además, puede variar en función del momento del día en que se recoja y verse afectada en mayor modo que la de 24 horas por factores como la dieta y actividad física. Entre las muestras de orina aislada de las que se disponen datos fiables para el estudio del riesgo de cristalización urinaria destacan la primera y la segunda orina de la mañana y la orina de la tarde (84,93,95).

Orinas minutadas en períodos cortos y orinas de micción seriadas

Existen publicaciones que realizan el análisis de orinas recogidas durante períodos de tiempo cortos (varias horas) de manera seriada durante un período de 24 horas para el estudio metabólico urinario (96). Aunque permiten calcular el volumen urinario y las excreciones urinarias de solutos por unidad de tiempo, la información que proporcionan es limitada, por no ser en un período de tiempo extrapolable al volumen de 24 horas. Además, este procedimiento presenta dificultades en la recogida de las muestras seriadas y un elevado coste económico, por los numerosos análisis requeridos.

Otras publicaciones establecen la utilidad del análisis de la última orina del día y la primera orina de la mañana para la detección de la hipercalcúria e hipocitraturia en pacientes pediátricos (17). El análisis de estas muestras resulta cómodo para el paciente y permite el estudio de dos de los períodos de mayor riesgo (la noche y las primeras horas de la mañana). Sin embargo, no aporta información sobre el período de la tarde ni datos en relación al volumen urinario del sujeto.

Orina de 12 horas nocturna

La muestra de orina de 12 horas nocturna (de 20 h a 8 h del día siguiente) es un tipo de muestra de orina minutada que nos proporciona la información de la orina del período nocturno. Es un tipo de muestra ya utilizada con frecuencia en la práctica clínica y que se considera la técnica de elección en el estudio del paciente con proteinuria (97). La principal ventaja de su uso en la litiasis renal es que, al recoger la orina de la noche y la primera orina de la mañana, su análisis incluye los períodos de mayor riesgo de cristalización urinaria (81,98).

Otro aspecto a considerar, es que esta muestra nos permite incluir la orina de la después de la cena y así proporciona datos sobre la influencia dietética. Además, al ser una muestra de orina minutada en un período largo de tiempo (12 horas) aporta información de las excreciones de solutos y sobre el volumen urinario.

Como inconvenientes, cabe destacar que en determinadas ocasiones la recogida de la orina durante la noche no es viable, por patología (enuresis o incontinencia) o por preferencias de horario.

JUSTIFICACIÓN

2. JUSTIFICACIÓN

La prevalencia de litiasis renal está aumentando de manera alarmante en todos los grupos de edad. El conocimiento de las alteraciones metabólicas urinarias y su correcto diagnóstico puede evitar la formación y recurrencia de litiasis. El estudio de la composición de la orina es esencial para este fin y es muy dependiente de una correcta recogida y procesamiento de la muestra. Las guías clínicas recomiendan realizar este análisis en muestras de orina de 24 horas, pero es un tipo de muestra de difícil obtención y con un elevado porcentaje de errores en su recogida, que condicionan su desuso o dificultades en la interpretación de sus resultados.

En el afán de encontrar un protocolo simplificado de evaluación del paciente con litiasis renal, en este trabajo nos proponemos profundizar en el conocimiento de la muestra de orina de 12 horas nocturna para el estudio de los parámetros urinarios implicados en la cristalización urinaria, tanto en población infantil como adulta. Es posible que este tipo de muestra presente características propias, condicionadas por la variabilidad circadiana en la composición de la orina y por la influencia de los factores ambientales que inciden de forma diferente durante el día y la noche. Ello puede ser de especial importancia a la hora de interpretar los resultados obtenidos.

En la actualidad están establecidos los valores de referencia de la excreción de solutos principalmente en la muestra de orina de 24 horas. Las dificultades del uso de otras muestras diferentes derivan de la escasez de datos en la literatura que aporten valores de referencia y puntos de corte adaptados. Por ello, la interpretación de sus resultados obliga en muchos casos a hacer una extrapolación de los valores y referirlos al total de los de 24 horas. En el caso de la muestra de orina de 12 horas, implica asumir los parámetros hallados como los del día entero y para algunos parámetros (como las cantidades totales de excreción de soluto en 24 horas) multiplicar los valores de las 12 horas por dos. Hasta el momento no existe ningún estudio que haya comparado los resultados de las excreciones urinarias de los solutos en orinas de 12 horas de los períodos consecutivos del día entre sí y con los del total de 24 horas.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Debido a que la composición de la orina está condicionada por factores endógenos y exógenos que varían a lo largo del día, los valores de los parámetros urinarios relacionados con el riesgo de cristalización en una muestra de orina de 12 horas pueden variar en función de si se trata de orina del período diurno o del período nocturno. Es posible que las diferencias no sigan el mismo patrón en distintas poblaciones, según la edad (niños y adultos) o según su situación clínica (sanos y litiasicos).

Asimismo, esta variabilidad puede condicionar que los resultados del análisis de estos parámetros urinarios en una muestra de orina de 12 horas (en el caso de los índices urinarios o en el cálculo de las excreciones totales al multiplicar por dos) sean diferentes de los obtenidos al analizar los mismos parámetros bioquímicos en el conjunto de la orina de 24 horas del mismo día. Por ello, los valores de referencia de las alteraciones metabólicas publicados para orina de 24 horas no serían extrapolables para el diagnóstico de las mismas alteraciones en este otro tipo de muestra de 12 horas.

La noche está descrita como un período de mayor riesgo litogénico. Por tanto, la muestra de orina de 12 horas nocturna podría ser una buena herramienta de detección de alteraciones metabólicas urinarias, tanto en el cribado de población de riesgo, como en el seguimiento de pacientes ya diagnosticados de dichas alteraciones en la orina de 24 horas, siempre y cuando se dispusiera de unos valores de referencia adecuados.

Objetivo principal

Estudiar la variabilidad circadiana de los parámetros implicados en el riesgo de cristalización urinaria en dos muestras consecutivas de orina de 12 horas, en cuatro grupos de población: niños sanos, niños con litiasis renal, adultos sanos y adultos con litiasis renal.

Objetivos secundarios

3.2.2.1. Analizar la relación de los parámetros implicados en la cristalización urinaria de la fracción de orina de 12 horas nocturna respecto al total de 24 horas.

3.2.2.2. Evaluar la utilidad de la muestra de orina de 12 horas nocturna como herramienta diagnóstica de las principales alteraciones metabólicas y de valoración del riesgo de cristalización urinaria.

3.2.2.3. Análisis descriptivo de los resultados de los parámetros relacionados con la cristalización urinaria en las muestras fraccionadas de 12 horas (diurna y nocturna) en población sana.

3.2.2.4. Análisis descriptivo de los resultados de los parámetros relacionados con la cristalización urinaria en la orina de 24 horas en población sana de nuestro entorno.

METODOLOGÍA

4. METODOLOGÍA

4.1. Tipo de estudio y población

Se realizó un estudio prospectivo observacional descriptivo. El trabajo de campo se desarrolló en el período entre enero de 2017 y febrero de 2018. De forma previa a la puesta en marcha del estudio se obtuvo la aprobación por parte del Comité de Ética de Investigación Clínica de Les Illes Balears y de la Fiscalía de Menores de les Illes Balears, código IUNICS 2009/LT1.

La muestra se seleccionó entre 4 grupos de población: niños sanos, niños con antecedentes de litiasis renal, adultos sanos y adultos con antecedentes de litiasis renal, de la siguiente manera:

- Niños sanos: edades comprendidas entre los 5 y 12 años, se seleccionaron entre la población infantil escolarizada en el área de Palma y poblaciones colindantes. Se incluyeron en el estudio tanto colegios públicos, como privados y concertados, situados en barrios con diferentes niveles económicos y culturales. Se contactó y se solicitó en cada caso el compromiso de colaboración por parte de la dirección de los colegios implicados.
- Niños litiásicos y prelitiásicos: se reclutaron en las consultas externas de la Unidad de Nefrología Infantil del Hospital Universitari Son Espases, de Palma de Mallorca.
- Adultos sanos: fueron reclutados en el entorno de los investigadores y entre los padres de los niños sanos.
- Adultos litiásicos: se reclutaron en las consultas externas del Servicio de Nefrología y de Urología del Hospital Son Llàtzer, de Palma de Mallorca.

Los criterios de inclusión y exclusión de cada grupo se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Criterios de inclusión y exclusión de la muestra de niños sanos (A), niños litíasicos y pre-litíasicos (B), adultos sanos (C) y adultos litíasicos (D).

(A) Criterios de selección de la muestra de niños sanos	
Criterios de inclusión	<ul style="list-style-type: none"> Niños y niñas de 5 a 17 años escolarizados en Mallorca Firma del consentimiento informado (tutor menor o el niño si >12 años) y asentimiento (entre 6 y 11 años)
Criterios de exclusión	<ul style="list-style-type: none"> Condiciones que dificulten la recogida de la muestra de orina de 24 horas, como enuresis, incontinencia urinaria. Patología susceptible de alterar la eliminación urinaria de las sustancias analizadas: inmovilización, fractura ósea los 6 meses previos al estudio, enfermedades crónicas (exceptuando asma bronquial controlado sin tratamiento e intolerancias alimentarias) Tratamiento con fármacos que afectan al metabolismo mineral: corticoides, antiinflamatorios, diuréticos, anticonvulsivantes, suplementos vitamínicos (preciso haber dejado el tratamiento un mínimo de un mes antes de la determinación)
(B) Criterios de selección de la muestra de los niños litíasicos y prelitíasicos	
Criterios de inclusión	<ul style="list-style-type: none"> Niños y niñas de 5 a 17 años Firma del consentimiento informado (tutor legal o niño si > 12 años) y asentimiento (entre 6 y 11 años) <u>Niños litíasicos</u>: deben tener antecedentes de litiasis renal con cálculo confirmado mediante técnicas de imagen o expulsado, de tipo no infeccioso. El tiempo transcurrido desde el cólico renal debe ser de al menos 1 mes. <u>Niños prelitíasicos</u>: presentan de forma crónica alteraciones metabólicas urinarias relacionadas con el riesgo de formar cálculos urinarios (hipercaciuria, hipocitraturia, hiperoxaluria, hiperuricosuria, hipomagnesuria, cistinuria), acompañadas de sintomatología clínica.
Criterios de exclusión	<ul style="list-style-type: none"> Condiciones que dificulten la recogida de la muestra de orina de 24 horas, como enuresis, incontinencia urinaria. Patología susceptible de alterar la eliminación urinaria de las sustancias analizadas o afecten a la función renal: inmovilización, fractura ósea, enfermedades crónicas (exceptuando asma bronquial controlado e intolerancias alimentarias). Tratamiento con fármacos que afectan al metabolismo mineral: corticoides, antiinflamatorios, diuréticos, anticonvulsivantes, suplementos vitamínicos (preciso haber finalizado el tratamiento un mes previo a la determinación). No será criterio de exclusión la profilaxis antibiótica en niños con uropatía.

(C) Criterios de selección de la muestra de los adultos sanos	
Criterios de inclusión	<ul style="list-style-type: none"> • Adultos de 25 a 70 años • Firma del consentimiento informado
Criterios de exclusión	<ul style="list-style-type: none"> • Condiciones que dificulten la recogida de la muestra de orina de 24 horas • Patología susceptible de alterar la eliminación urinaria de las sustancias analizadas o afecten a la función renal: inmovilización, fractura ósea los 6 meses previos, síndrome metabólico, enfermedades crónicas (exceptuando asma bronquial e intolerancias alimentarias). • Tratamiento con fármacos que afectan al metabolismo mineral: corticoides, antiinflamatorios, diuréticos, anticonvulsivantes, suplementos vitamínicos (preciso haber finalizado el tratamiento un mes previo a la determinación). • Hábitos tóxicos. Historia de abuso de tóxicos y drogas de adicción. • Embarazo, debido a la alteración en la fisiología renal
(D) Criterios de selección de la muestra de los adultos con antecedentes de litiasis renal	
Criterios de inclusión	<ul style="list-style-type: none"> • Adultos de 25 a 70 años • Firma del consentimiento informado • Presentar antecedentes de litiasis renal con cálculo confirmado mediante técnica de imagen y expulsado de características no infecciosas en los dos años anteriores al estudio. El tiempo transcurrido desde el cuadro agudo de cólico debe ser de al menos 1 mes. Si el paciente toma tratamiento, deberán abandonar la medicación para esta condición, al menos cuatro días antes de la recogida de la orina.
Criterios de exclusión	<ul style="list-style-type: none"> • Condiciones que dificulten la recogida de la muestra de orina de 24 horas • Patología susceptible de alterar la eliminación urinaria de las sustancias analizadas o afecten a la función renal: inmovilización, fractura ósea los 6 meses previos, síndrome metabólico, enfermedades crónicas (exceptuando asma bronquial e intolerancias alimentarias). • Tratamiento con fármacos que afectan al metabolismo mineral: corticoides, antiinflamatorios, diuréticos, anticonvulsivantes, suplementos vitamínicos (preciso haber finalizado el tratamiento un mes previo a la determinación). • Hábitos tóxicos. Historia de abuso de tóxicos y drogas de adicción. • Embarazo, debido a la alteración en la fisiología renal

Para fomentar la participación se elaboró un documento informativo dirigido a los padres de los niños y a los adultos (Anexo II). En este documento se explicó la finalidad y las características del estudio y se solicitó la participación voluntaria. Asimismo, se hizo constar claramente el

compromiso de cumplimiento de la Ley de Protección de Datos de Carácter personal 15/1999 y el Real Decreto 1720/2007 y las normas éticas dictadas en la Declaración de Helsinki y revisiones posteriores.

A partir de enero de 2017 se fueron incluyendo niños y adultos en el estudio, siguiendo el siguiente protocolo, que se expone a continuación:

- Día 1: entrega de la hoja información y solicitud participación (Anexo I)
- Día 2: inclusión en el estudio, entrega de cuestionario de información general, consentimiento informado (tutor de menor o adulto) y asentimiento (6-11 años). Entrega recipientes para recogida muestras orina e instrucciones (Anexo I)
- Día 3: recogida de las muestras orina en el centro escolar/laboral/hospital. Examen físico: antropometría. Transporte y procesamiento de las muestras orina en el laboratorio

4.2. Recogida de datos y muestras orina

Se realizó una entrevista con cada sujeto o con el padre/madre en el caso de los niños, en la que se procedió a cumplimentar el documento de consentimiento informado (Anexo I) y recoger datos relativos a:

- Datos de filiación.
- Datos de antecedentes personales y familiares, según modelo del cuaderno de recogida de datos diseñado para tal fin (Anexo II).
 - a) Edad, sexo
 - b) Antropometría: peso, talla, índice de masa corporal (IMC)
 - c) Presencia de patología o tratamiento farmacológico
 - d) Presencia de antecedentes personales o familiares (familiares de primer grado) de síntomas relacionados con litiasis urinaria: dolor lumbar cólico, infecciones orina, hematuria o uropatía

Se pidió a los participantes que mantengan sus hábitos normales de alimentación y de actividad física. De cada participante se recogieron dos muestras de orina, proporcionándole a ella o a la

persona responsable (en caso de los niños) las instrucciones precisas para llevarla a cabo. Se obtuvo la muestra de 12 horas diurnas y la de 12 horas nocturnas del mismo día que, combinadas, son la orina de 24 horas, por lo que la prueba a evaluar y el patrón se obtiene en el mismo sujeto.

- A) Muestra de orina minutada de período diurno (de 8 a 20 h): se indicó al participante que realice una micción a las 8 h (que es descartada, no se incluye en el bote). A partir de entonces se recogieron todas las micciones de las siguientes 12 horas, incluyendo en este bote una micción a las 20 h.
- B) Muestra de orina minutada de período nocturno (de 20 a 8 h): se inició la recogida desde las 20 horas hasta las 8 horas del día siguiente, incluyendo la primera orina de la mañana en ayunas.

Para la recogida de ambas muestras se utilizó un recipiente de muestras de orina de 2 litros, conteniendo timol como conservante. Las muestras fueron almacenadas a temperatura ambiente hasta su análisis, si bien durante el transporte se tomaron medidas para evitar temperaturas extremas durante los meses de calor (figura 14).

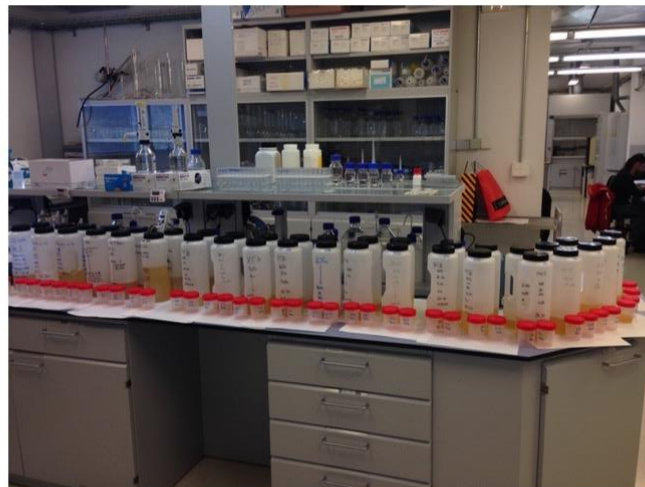


Figura 14. Laboratorio de litiasis renal del Institut d'Investigació Sanitària de les Illes Balears (IdISBa). Imágenes de los recipientes de muestras de orina de 24 horas utilizadas para la recogida de la orina de los dos períodos.

4.3. Análisis de las muestras de orina

Las muestras se entregaron en los centros escolares o en los hospitales participantes y fueron transportadas inmediatamente al laboratorio de litiasis del Instituto Universitario de Investigación en Ciencias de la Salud (IUNICS) para la primera fase de su análisis. Posteriormente se trasladaron al laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital Universitari Son Espases para completar su análisis.

A la entrada al laboratorio del IUNICS se midió el volumen urinario de las muestras de orina (diurna y nocturna) y el valor de pH de ambas muestras, con un aparato dotado de un electrodo de vidrio (Crison-pH 25) calibrado cada vez que se iniciaban las determinaciones de un mismo día. Se prepararon 2 alícuotas de 10 ml a partir de cada muestra de orina (una de ellos acidificada y la otra sin acidificar) que se trasladaron al laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario Son Espases. A la llegada al hospital se procedió a la apertura de historia clínica y a la generación de las peticiones analíticas correspondientes para cada participante. A continuación, se entregan las muestras al laboratorio (6 alícuotas por cada participante) y se procedió a su análisis (figura 15).

Muestra de orina minutada del período de 12 horas diurno:

Se separaron tres alícuotas a partir de la misma:

- Una alícuota acidificada con HCl en proporción 1:10. De esta muestra se rellenaron dos tubos rotulados como 80 y 95. En ellos se efectuaron las siguientes determinaciones:
80: Orina de 12h con ácido: Calcio, Magnesio, Fósforo, Oxalato
95: Orina de 12 h con ácido: Citratos
- Una alícuota sin acidificar para la determinación de pH, creatinina, ácido úrico, sodio, potasio y cloro. Si el pH de la muestra fue inferior a 5,5 se añadió una gota de Na OH para evitar la precipitación del ácido úrico.

Muestra de orina minutada del período de 12 horas nocturno:

Se separaron tres alícuotas a partir de la misma:

- Una alícuota acidificada con HCl en proporción 1:10. De esta muestra se rellenaron dos tubos rotulados como 80 y 95. En ellos se efectuaron las siguientes determinaciones:
80: Orina de 12h con ácido: Calcio, Magnesio, Fósforo, Oxalato
95: Orina de 12 h con ácido: Citratos

- Una alícuota sin acidificar para la determinación de pH, creatinina, ácido úrico, sodio, potasio y cloro. Si el pH de la muestra era inferior a 5,5 se añadió una gota de Na OH para evitar la precipitación del ácido úrico.

Muestra de orina minutada de 24 horas:

El volumen urinario y la cantidad excretada de los solutos estudiados en la orina de 24 horas se obtuvieron mediante la suma de los resultados del análisis de las 2 muestras que la componían, de orina de 12 horas del período diurno y nocturno. No disponemos de valores de pH en orina de 24 horas puesto que su determinación no se puede realizar a partir de los valores de 12 horas, ya que siguen una escala logarítmica.

Las determinaciones son realizadas en un auto-analizador ARCHITECT C16000 de Abbot. Las técnicas empleadas en el análisis de los diferentes solutos fueron:

a) Creatinina

Picrato alcalino cinético con trazabilidad a la IDMS. A un pH alcalino, la creatinina presente en la muestra reacciona con el picrato para formar un complejo de creatinina-picrato. El incremento de la absorbancia a 500 nm, debido a la formación del complejo, es directamente proporcional a la concentración de creatinina en la muestra. *Reactivo de Abbott 3L81-22/-32*

b) Calcio

Test colorimétrico con determinación del punto final y blanco de muestra: el colorante de Arsenazo-III reacciona con el calcio en medio ácido y forma un complejo azul-morado. El color desarrollado se mide a 660 nm y es proporcional a la concentración de calcio en la muestra. *Reactivo de Abbot, Ref 3L79-21/-31*

c) Fósforo

Método de punto final con blanco muestra: en solución ácida sulfúrica, el fósforo inorgánico forma con el molibdato de amonio un complejo de fosfomolibdato de amonio. Este complejo se mide fotométricamente en la zona ultravioleta (340nm)

Reactivo de Abbot, Ref: 7D71-22/-31

c) Magnesio

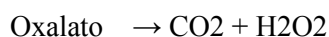
Método enzimático. El magnesio presente en la muestra es un cofactor en una reacción enzimática con isocitrato deshidrogenasa. El aumento de absorbancia a 340 nm debido a la formación de NADPH es directamente proporcional a la concentración de magnesio. *Reactivo de Abbott, Ref 3P68*

c) Oxalato

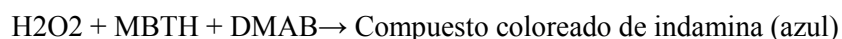
Enzimático colorimétrico, a punto final. El método está basado en la detección del peróxido de hidrógeno formado por la acción de la enzima oxalato oxidasa sobre el oxalato de la muestra, determinado cuantitativamente por su reacción con 3-metil-2-benzotiozolinona (MBTH) y ácido 3-(dimetilamino)-benzoico (DMAB). El color obtenido fue azul, con un máximo de absorbancia a 590 nm. La intensidad del color, en las condiciones de la reacción, es directamente proporcional a la concentración de oxalato en la muestra. *Kit de reactivos BEN. Ref: OX8850*

Las siguientes determinaciones fueron realizadas en un auto-analizador *A15 de BioSystems*. Las técnicas empleadas en el análisis de los diferentes solutos son:

Oxalato oxidasa



Peroxidasa

**d) Ácido úrico**

Test enzimático colorimétrico. El ácido úrico fue desdoblado por la uricasa a alantoína y peróxido de hidrógeno. *Reactivo de Abbott, Ref: 3P39-21*

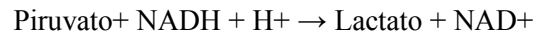
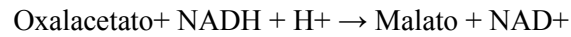
g) Citrato

Test enzimático ultravioleta. El ácido cítrico es transformado en oxalacetato a través de una reacción catalizada por el enzima citrato liasa (CL):

Citrato liasa



En presencia de los enzimas L-malato deshidrogenada (L-MDH) y L-lactato deshidrogenada (L-LDH), el oxalacetato y el producto de su descarboxilación, el piruvato, son reducidos a malato y lactato respectivamente por el NADH:



La cantidad de NADH oxidado en ambas reacciones es estequiométricamente la cantidad de citrato. El NADH se determinó como medias de absorbancia a 334, 340, o 365 nm. *Reactivo de BioSystems COD 11795*



Figura 15. *Imagen del laboratorio del Hospital Universitari Son Espases.*

4.4. Criterios de recogida correcta de las muestras de orina

La recogida de las muestras de orina minutada está sujeta a numerosos errores, por lo que fue necesario aplicar criterios de una adecuada recogida de la muestra para su inclusión en el análisis de datos.

Criterios de recogida correcta del total de 24 horas:

Con objeto de minimizar los errores derivados de las muestras recogidas de forma incorrecta, se excluyeron las orinas con los siguientes criterios:

- Errores referidos por el propio participante.
- Sospecha de pérdida miccional o exceso de horario de recogida. Los valores de creatininuria para considerar las muestras de orina como adecuadas fueron (65):
 - o Entre 15 y 25 mg/kg/día en niños
 - o Entre 18 y 24 mg/Kg/día en adultos varones
 - o Entre 15 y 20 mg/Kg/día en adultos mujeres

Criterios de recogida correcta de las fracciones de orina de 12 horas:

Para determinar la correcta recogida de las muestras de orina de las dos fracciones del día (del período diurno y nocturno), se aceptó una variabilidad de creatinina inferior al 30% entre ambas muestras. Este valor se extrapoló de los estudios realizados en varias muestras de 24 horas, en los que se analizaron la variabilidad intra-individual que puede considerarse normal entre muestras de orina de un mismo sujeto recogidas en días consecutivos. Ello es debido a que, en condiciones normales, la tasa de excreción de creatinina es relativamente constante a lo largo de las 24 horas del día (99).

4.5. Cálculo de parámetros metabólicos urinarios

Tras el análisis de las muestras, los resultados de cada uno de los solutos estudiados fueron remitidos por el laboratorio en forma de: cantidad total en 12 horas (sólo en orinas minutadas y expresada como mg/12h) y en forma de concentración (expresada en mg/dl para: fósforo, calcio, magnesio, creatinina y ácido úrico y en mg/l para: citrato y oxalato). Con estos datos se calcularon los índices urinarios y la eliminación urinaria en 12 horas de las diferentes sustancias tanto en la muestra diurna como nocturna.

4.5.1. Cálculo de la eliminación urinaria de sustancias en 12 horas y en 24 horas.

Este cálculo se realizó en las muestras de orina minutadas de 12 horas diurna, de 12 horas nocturna y en orina de 24 horas. En la población infantil, como los parámetros antropométricos oscilan en función de la edad, la práctica habitual obliga a referir los resultados de excreción al peso o a la superficie corporal. En el presente estudio, para unificar las formas de expresión de los resultados, también incluimos este cálculo en los datos referidos a la población adulta. Para el cálculo de la eliminación diaria de calcio, magnesio, fósforo, ácido úrico, citrato y oxalato, se empleó la siguiente fórmula:

$$\text{Cantidad de soluto en 24h} = \text{Solute en mg/kg/24 h}$$

Posteriormente, se ajustó en función de los parámetros antropométricos del niño de modo que:

- La excreción de calcio (*calciuria*) fósforo (*fosfaturia*) citrato (*citraturia*) y de magnesio (*magnesuria*) se relacionó con el peso, expresándose el resultado en mg/kg/12 h o mg/kg/24h.
- La eliminación urinaria de ácido úrico (*uricosuria*) y oxalato (*oxaluria*) se expresó corregida por la superficie corporal, presentando el resultado en mg/1,73m²12h o mg/1,73m²/24h.

Los valores de referencia de niños y adultos se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Valores normales de la eliminación urinaria de sustancias en población infantil (A) y en población adulta (B).

(A) Valores normales de las excreciones de solutos urinarios en población infantil (100)	
Calciuria	< 4 mg/kg/24h
Citraturia	> 180 mg/1,73 m ² /24h (niños) > 250 mg/1,73 m ² /24h (niñas)
Magnesuria	>2,1+/-1,1 mg/kg/24h

Fosfaturia	<12,4+/-4,6 mg/kg/24h
Uricosuria	5-11 años: < 714 mg/1,73 m ² /24h 11-14 años: < 673 mg/1,73 m ² /24h
Oxaluria	< 0,5 mmol/1,73 m ² /24h

(B) Valores normales de las excreciones de solutos urinarios en población adulta (101)	
Calciuria	< 320 mg/24h
Fosfaturia	<1000 mg/24h
Magnesuria	>72 mg/24 h
Oxaluria	< 44 mg/24 h
Uricosuria	< 670 mg/24h
Citraturia	Mujeres > 360 mg/24 h Varones > 320 mg/24h

4.5.2. Cálculo de índices urinarios

Los índices se calculan tanto en de 12 horas diurna como en orina de 12 horas nocturna.

- Índices calcio/creatinina (Ca/Cr), fósforo/creatinina (P/Cr), magnesio/creatinina (Mg/Cr), úrico/creatinina (Ur/Cr), (se expresan en mg/mg) y se calcularon:
Concentración de soluto (mg/dl) / concentración creatinina (mg/dl)
- Índice oxalato/creatinina (Ox/Cr): (se expresa en mmol/mol). Para ello:
[Concentración oxalato (mg/l) / creatinina (mg/dl)] x 128
- Índice citrato/creatinina (Cit/Cr): (se expresa en mg/g). Para ello:
[Concentración citrato (mg/l) / creatinina (mg/dl)] x 100
- Índice calcio/citrato (Ca/Cit): (se expresa en mg/mg). Para ello:
[Concentración calcio (mg/dl) / citrato (mg/l)] x 10

Los valores normales para cada uno de los parámetros analizados se muestran en la Tabla 4. Corresponden a los de uso clínico habitual en nuestro medio (82,100).

Tabla 4. *Valores normales de los índices urinarios en población infantil.*

Parámetro	Valor normal
Calcio/creatinina	> 4 años: < 0,20 mg/mg
Fósforo/creatinina	5- 7 años: <1,49 mg/mg 8- 10 años: < 0,97 mg/mg >10 años: < 0,90 mg/mg 10-14 años: < 0,86 mg/mg
Magnesio/creatinina	5 - 7 años: > 0,06 mg/mg 7 - 14 años: > 0,05 mg/mg
Oxalato/creatinina	2- 9 años: < 70 mmol/mol >10 años: < 50 mmol/mol
Úrico/creatinina	5 - 6 años: < 1,14 mg/mg 7 - 8 años: < 0,96 mg/mg 9 - 10 años: < 0,88 mg/mg 11 - 12 años: < 0,73 mg/mg 12-14 años: < 0,65 mg/mg 14-17 años: < 0,59 mg/mg
Citrato/creatinina	> 320 mg/g
Calcio/citrato	< 0,33 mg/g

No disponemos en las guías clínicas de los puntos de corte de algunos solutos en determinadas franjas de edad. En estos casos, hemos optado por utilizar como punto de corte el descrito en la franja de edad más próxima a la del sujeto.

4.6. Análisis de los datos

Se recogió la información mediante un cuaderno de recogida de datos de papel y posteriormente, se transcribió a formato informático. Los datos obtenidos fueron tabulados, revisados, verificados y confirmados, con el fin de detectar y corregir las inconsistencias, errores y faltas. Se monitorizó la entrada de datos en una base electrónica que fue de nuevo revisada previamente al análisis, con ayuda de filtros (detección de valores imposibles) y cruces de campos lógicos, para detectar inconsistencias de respuestas.

Se realizó análisis descriptivo de las variables de razón e intervalo, describiendo la distribución de sus valores mediante gráficos y calculando, como medidas de centralización, dependiendo de que se pudiera asumir la normalidad de la variable, las medias con sus desviaciones estándar (DE) e intervalos de confianza al 95% (IC95%) o las medianas y los percentiles 5, 10, 25, 75, 90, 95, excepto cuando fuera interesante una aproximación a la determinación de valores de referencia en sujetos sanos, en los que se añadieron los percentiles 2,5 y 97,5 con el objetivo de cubrir el 95% de la muestra. Las variables cualitativas se resumieron calculando las frecuencias (proporciones) y sus intervalos de confianza al 95%.

Para comparar los valores entre las diferentes muestras, pe. orina de 12h diurna con orina de 12h nocturna se realizaron gráficos de Bland-Altman, para evaluar visualmente las discrepancias de sus medidas en todo el rango de valores, cuantificando la diferencia media entre las dos y su intervalo de confianza al 95%. También, se calculó el coeficiente de correlación lineal, entendiendo que con valores $r > 0,7$ existe buena correlación, moderada por encima de 0,4 y despreciable si es inferior. Para contrastar las hipótesis nulas, de igualdad, se utilizó el test de Wilcoxon o la prueba de t de Student para datos apareados, cuando se trataba de muestras del mismo sujeto y el test U de Mann-Whitney o la prueba t de Student para datos independientes cuando se compararon valores entre diferentes grupos, pe. litiásicos y no litiásicos.

Para comparar los valores de parámetros dependientes de volumen, como la excreción total de un soluto, entre la orina de 12 horas nocturna y el total de 24 horas, se extrapoló el valor

obtenido en la orina nocturna al supuesto para 24h de mantenerse la excreción de forma constante. Se calculó la diferencia absoluta y la diferencia relativa entre el valor extrapolado de la orina nocturna con el real de la orina de 24h.

Se categorizaron los parámetros urinarios para los que existen puntos de corte que definen las alteraciones metabólicas aceptados en la actualidad. Se construyeron tablas de contingencia para evaluar el grado de acuerdo entre las diferentes muestras y el número de falsos negativos y sobrediagnóstico, considerando la orina de 24h como ‘gold-estándar’.

Se utilizó el Microsoft Excel (2010), R versión 3.6.3 (R Core Team, 2020) y el paquete ggplot2 versión 3.3.2 (Wickham, 2016), e IBM SPSS Statistics ® para Windows versión 22.0.

RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1. Descripción de la población del estudio

En el estudio participaron un total de 120 niños. De ellos, 7 no cumplieron los criterios de recogida correcta de las muestras y fueron excluidos del análisis de los resultados. La muestra final de población en edad pediátrica se compuso de un total de 113 niños, de los cuales 87 están en el grupo de sanos y 26 en el grupo de litiasicos. De los últimos, 12 tenían el diagnóstico de pre-litiasis y 14 tenían litiasis renal confirmada mediante prueba de imagen. De estos, los cálculos renales expulsados y analizados (n=8), por orden de frecuencia fueron de COD (n=5) y COD+HAP (n=3).

El número de participantes en edad adulta fue de 154. De ellos, 5 no cumplían los criterios de recogida correcta de las muestras y fueron excluidos del análisis de los resultados. Finalmente, la muestra de población adulta se compuso de un total de 149 participantes (82 en el grupo de sanos y 67 en el grupo de litiasicos). Los tipos de cálculo renal expulsado y analizado (n=46), por orden de frecuencia, fueron de COD (n=13), COMp (n=11), COMc (n=10), HAP+COD (n=7) y HAP (n=4) y Ur (n=1).

Las características y variables antropométricas de cada uno de los cuatro grupos de estudio se muestran a continuación (ver tabla 5).

Tabla 5. Características de la muestra de cada grupo del estudio. El sexo mujer/varón se ha representado como el porcentaje respecto al total de sujetos de su grupo.

	Niños sanos n=87	Niños litiasicos n=26	Adultos sanos n=82	Adultos litiasicos n=67
Sexo (M / V)	43%/57%	42%/58%	54%/46%	44%/56%
Edad (años)	11,5 (3,0)	12,2 (4,0)	40,4 (9,7)	45,9 (12,9)
Peso (kg)	45,8 (14,2)	45,6 (19,6)	68,0 (12,7)	70,7 (16)
Talla (cm)	151,2 (17,4)	148,7 (21,3)	169,6 (7,8)	167,2 (9,7)
IMC (kg/m²)	19,2 (3,0)	19,4 (4,6)	23,5 (3,0)	25,0 (4,0)

IMC: índice de masa corporal. Valores expresados como media y (DE).

La distribución por edades de los participantes en cada uno de los cuatro grupos estudio se muestra en la Figura 16.

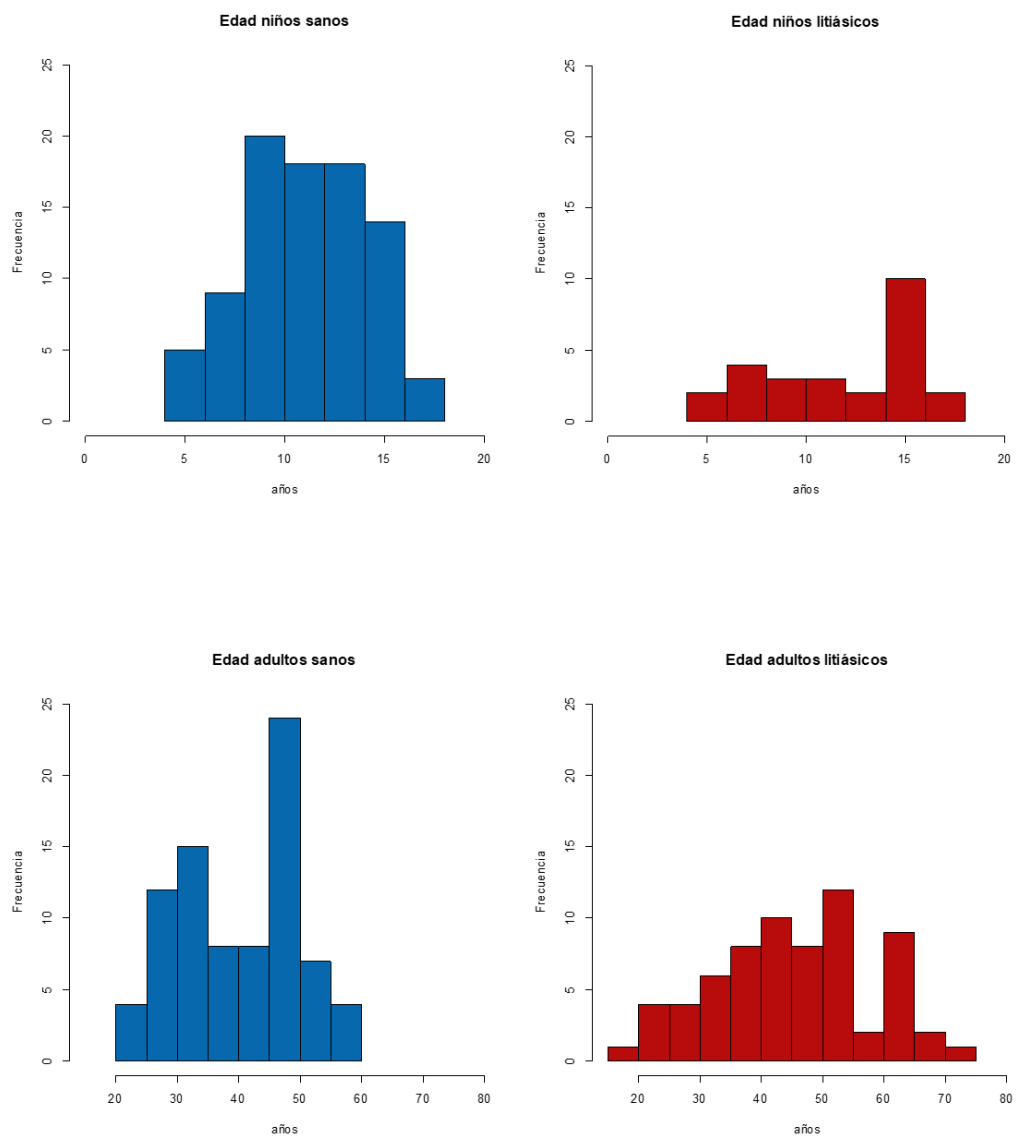


Figura 16. Distribución de la muestra del estudio en función de la edad en niños sanos, niños litíasicos, adultos sanos y adultos litíasicos.

5.2. Comparación de los valores de los parámetros urinarios implicados en el riesgo de cristalización entre las muestras de orina de 12 horas diurna y nocturna en los cuatro grupos de población

Se establece la comparación de las medidas de volumen urinario, pH urinario y de los parámetros urinarios de las sustancias promotoras (calcio, fósforo, oxalato y úrico) y de las inhibidoras de la cristalización (citrato y magnesio) en las muestras de orina de 12 horas diurna y nocturna de los cuatro grupos de población. Se exponen los resultados en niños sanos, niños litíasicos, adultos sanos y adultos litíasicos. En los parámetros que siguen una distribución normal (pH urinario y creatininuria) los valores se expresan mediante la media y desviación estándar o intervalo de confianza. Los resultados del resto de parámetros (diuresis y solutos urinarios) se exponen mediante la mediana (p50) y los cuartiles (p25-p75).

5.2.1. Eliminación urinaria de creatinina

Se exponen los resultados de la excreción de creatinina en las dos muestras analizadas y en los cuatro grupos de población (Tabla 6).

Tabla 6. Excreción de creatinina en la muestra de orina de 12 horas diurna y la muestra de orina de 12 horas nocturna en los cuatro grupos de población. Los resultados se expresan en media y desviación standard (DS).

	Creat. orina 12h D	Creat. orina 12h N
Niños sanos (n=87)	10,5 (9,5-12,2)	10,0 (8,3-11,2)
Niños litíasicos (n=26)	11,2 (8,6-12,5)	9,8 (8,0-11,0)
Adultos sanos (n=82)	10,7 (9,3-12,8)	10,0 (8,7-11,2)
Adultos litíasicos (n=62)	10,6 (8,3-11,8)	9,6 (8,3-11,3)

12h D: orina 12 horas diurna, 12h N: orina 12 horas nocturna.

La media de los niveles de creatinina en orina es similar en las muestras de 12 horas diurna y nocturna.

5.2.2. Valores de pH urinario

Los resultados de los valores de pH en las muestras de orina de 12 horas diurna y nocturna se expresan en la tabla 7.

Tabla 7. *Valores de pH urinario en el conjunto de la muestra estudiada y en los diferentes grupos de población Los resultados se expresan en media y desviación standard (DE)*

	pH orina 12 h D (media +/-DE)	pH orina 12 h N (media +/-DE)	Valor de p
Niños sanos (n=87)	6,51 (0,5)	5,89 (0,4)	<0,001
Niños litíasicos (n=26)	6,36 (0,7)	5,93 (0,4)	0,037
Adultos sanos (n=82)	6,31 (0,6)	5,72 (0,4)	<0,001
Adultos litíasicos (n=62)	6,69 (0,7)	5,85 (0,5)	<0,001

12hD: orina 12 horas diurna, 12hN: orina 12 horas nocturna.

En los cuatro grupos de la población del estudio, el pH en la muestra de orina de 12 horas nocturna presenta valores más bajos que la de orina de 12 horas diurna.

En la tabla 8 se exponen los valores de pH urinario en individuos litíasicos, en función del tipo de cálculo urinario analizado (en niños y adultos).

Tabla 8. Valores de pH urinario en función de cada tipo de cálculo urinario (n=54). Resultados expresados en (media +/-DE).

	COD n=18	COMc n=11	COMp n=10	HAP n=4	HAP+COD n=10	Ur n=1
pH orina 12 h D	6,26 (0,5)	5,65 (0,6)	6,15 (0,7)	6,63 (0,3)	6,09 (0,5)	5,24
pH orina 12 h N	5,91 (0,5)	5,53 (0,4)	5,80 (0,6)	6,53 (0,4)	5,86 (0,4)	5,29

COD: oxalato cálcico dihidrato, COMc: oxalato cálcico monohidrato de cavidad, COMp: oxalato cálcico monohidrato papilar, HAP:hidroxiapatita, Ur: ácido úrico.

12hD: orina 12 horas diurna, 12hN: orina 12 horas nocturna, 24h: orina 24 horas.

5.2.3. Diuresis y eliminación de solutos en población infantil

En las tablas 9 y 10 se exponen los resultados de la comparación de las medidas de diuresis y de las sustancias promotoras e inhibidoras de la cristalización en las muestras de orina de 12 horas diurna y nocturna en población infantil. De cada soluto, se expresan los valores de su excreción total, excreción corregida por peso (en el caso del calcio, citrato, magnesio y fósforo), o por superficie corporal (en el oxalato y ácido úrico).

Tabla 9. Valores de los parámetros urinarios implicados en el riesgo de cristalización de las muestras de orina de 12 horas de niños sanos. Se expresa la mediana (p50) y los cuartiles (p25-p75) de los valores de cada soluto y del volumen urinario.

	Niños sanos		
	12h D	12 h N	Valor de p
Diuresis (ml/kg/h)	0,9 (0,7-1,3)	0,7 (0,5-0,9)	<0,001
Ca (mg)	31 (20-51)	33 (19-59)	0,004
Ca/Cr (mg/mg)	0,07 (0,04-0,1)	0,08 (0,05-0,13)	0,003
Ca (mg/kg/12h)	0,7 (0,5-1,1)	0,8 (0,5-1,2)	0,025
P (mg)	293 (239-405)	380 (300-487)	<0,001
P/Cr (mg/mg)	0,66 (0,57-0,86)	0,90 (0,75-0,09)	<0,001
P (mg/kg/12h)	7,3 (5,7-9,1)	9,5 (7,4-10,8)	<0,001
Mg (mg)	40 (29-50)	54 (42-64)	<0,001
Mg/Cr (mg/mg)	0,08 (0,07-0,09)	0,13 (0,09-0,16)	<0,001
Mg (mg/kg/12h)	0,9 (0,8-1,1)	1,3 (0,9-1,6)	<0,001
Ox (mg)	10 (8-13)	9 (7-12)	0,052
Ox/Cr (mg/mg)	28,7 (23,3-36,4)	29,7 (23,6-35,4)	0,780
Ox (mg/12h /1,73m²)	13,3 (11,3-17,1)	12,2 (9,6-15,5)	0,041
Ur (mg)	289 (220-350)	181 (138-247)	<0,001
Ur/Cr (mg/mg)	0,60 (0,51-0,71)	0,43 (0,37-0,50)	<0,001
Ur (mg/12h /1,73m²)	361 (312-420)	242 (193-300)	<0,001
Cit (mg)	288 (225-374)	169 (126-254)	<0,001
Cit/Cr (mg/g)	649 (467-818)	410 (279-589)	<0,001
Cit (mg/kg/12h)	7,0 (4,8-8,9)	4,2 (2,8-5,3)	<0,001
Ca/Cit (mg/mg)	0,11 (0,73-0,17)	0,21 (0,10-0,35)	<0,001

12hD: orina 12 horas diurna, 12hN: orina 12 horas nocturna.

Ca: calcio, Mg: magnesio, Cit: citrato, P: fósforo, Ur: ácido úrico, Ox: oxalato, Cr: creatinina

Tabla 10. Valores de los parámetros urinarios implicados en el riesgo de cristalización en las muestras de orina de 12 horas de niños litiasicos. Se expresa la mediana (p50) y los cuartiles (p25-p75) de los valores de cada soluto y del volumen urinario.

	Niños litiasicos		
	12h D	12 h N	Valor de p
Diuresis (ml/kg/h)	0,84 (0,69-1,24)	0,83 (0,63-1,47)	0,875
Ca (mg)	75 (47-153)	77 (42-137)	0,051
Ca/Cr (mg/mg)	0,16 (0,14-0,21)	0,18 (0,14-0,24)	0,198
Ca (mg/kg/12h)	1,7 (1,3-2,5)	1,9 (1,4-2,4)	0,638
P (mg)	238 (171-299)	346 (227-480)	0,001
P/Cr (mg/mg)	0,48 (0,34-0,66)	0,78 (0,61-1,15)	0,001
P (mg/kg/12h)	4,7 (3,7-6,2)	8,8 (6,3-9,7)	0,003
Mg (mg)	40 (27-57)	48 (35-71)	0,035
Mg/Cr (mg/mg)	0,08 (0,06-0,11)	0,12 (0,09-0,16)	0,041
Mg (mg/kg/12h)	0,9(0,7-1,1)	1,2 (0,8-1,6)	0,096
Ox (mg)	11 (8-15)	10 (8-14)	0,410
Ox/Cr (mg/mg)	30,1 (21,0-42,0)	28,6 (19,7-52,1)	0,437
Ox (mg/12h /1,73m²)	13,5 (12,2-19,7)	12,5 (11,1-17,3)	0,331
Ur (mg)	220 (169-315)	167 (116-277)	0,021
Ur/Cr (mg/mg)	0,53 (0,38-0,63)	0,42 (0,35-0,48)	0,016
Ur (mg/12h /1,73m²)	303 (254-362)	213 (167-288)	0,019
Cit (mg)	224 (182-289)	153 (100-180)	0,002
Cit/Cr (mg/g)	490 (233-751)	341 (186-539)	0,001
Cit (mg/kg/12h)	5,4 (2,9-6,5)	3,3 (2,4-5,1)	0,004
Ca/Cit (mg/mg)	0,37 (0,22-0,75)	0,49 (0,36-1,27)	0,016

12hD: orina 12 horas diurna, 12hN: orina 12 horas nocturna.

Ca: calcio, Mg: magnesio, Cit: citrato, P: fósforo, Ur: ácido úrico, Ox: oxalato, Cr: creatinina.

En población infantil sana (tabla 9) los valores tanto de las excreciones como de los índices urinarios en las muestras de orina de 12 horas nocturna muestran, respecto al día, valores mayores de fósforo, magnesio y del cociente Ca/Cit y menores de citrato y ácido úrico, con diferencias estadísticamente significativas. Además, se observan niveles más bajos de pH y de volumen urinario en la orina nocturna en comparación con la orina de 12 horas diurna ($p < 0,001$).

En la muestra de niños litiásicos (tabla 10) se encuentran las mismas diferencias, sin resultar estadísticamente significativas. Los valores de oxalato y calcio en ambas muestras no muestran diferencias entre ambos períodos tanto en niños sanos como en litiásicos. El cociente Ca/Cit es superior en la muestra de orina de 12 horas nocturna respecto a la orina diurna tanto en niños sanos ($p < 0,001$) como en niños litiásicos ($p = 0,016$).

Las diferencias de los valores del cociente calcio/citrato entre las muestras de orina de 12 horas diurna y nocturna en niños se muestran en la figura 15.

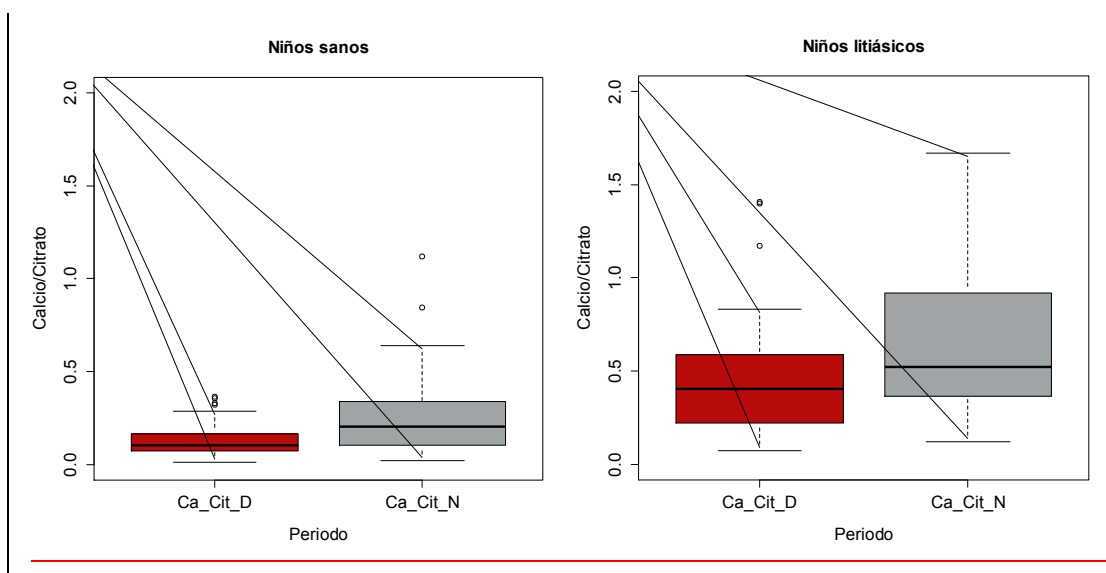
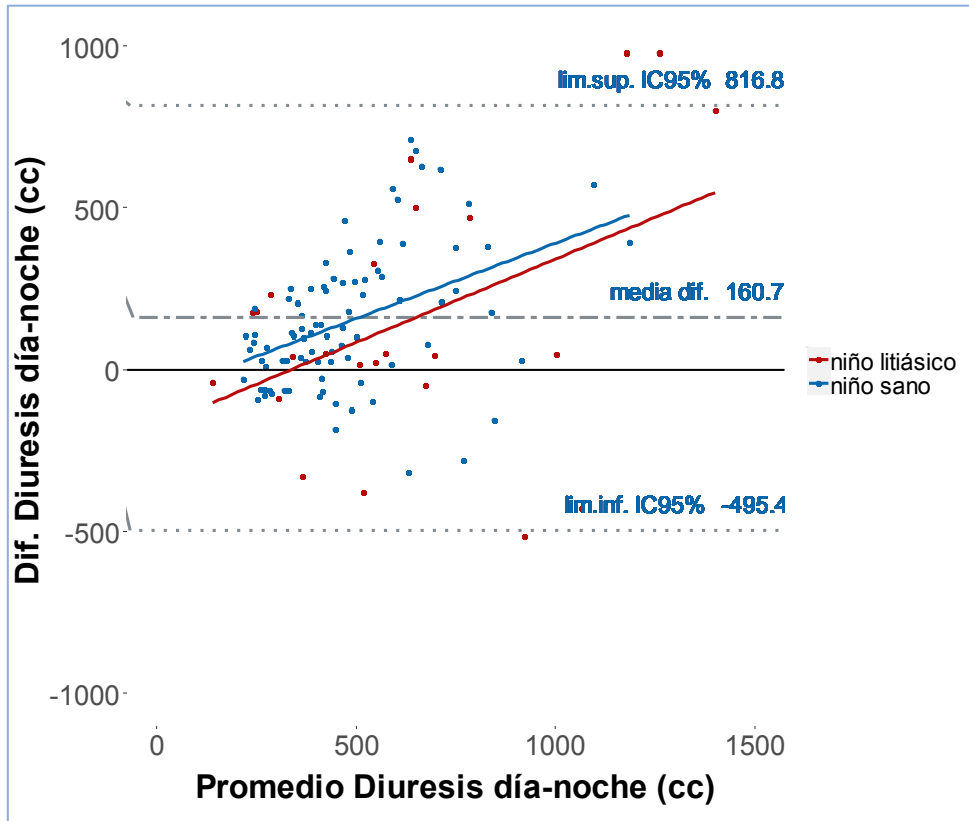


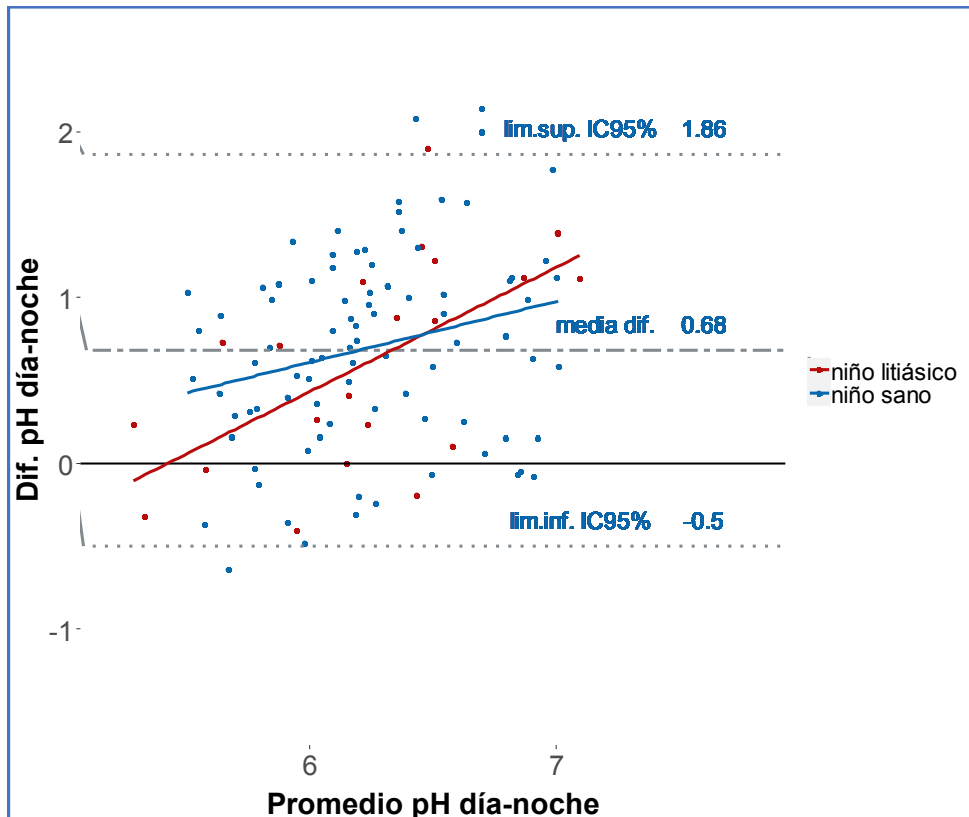
Figura 15. Diagrama de cajas de las diferencias del cociente Ca/Cit (calcio/citrato) entre las muestras de orina de 12 horas diurna (Ca/Cit_D) y nocturna (Ca/Cit_N) en niños sanos y niños litiásicos.

La diferencia entre los dos períodos analizados, representada para cada niño, se muestra en los gráficos de Bland-Altman (figura 16). Se representan las diferencias de los resultados del volumen urinario, pH urinario y excreciones de los solutos (mediante el índice soluto/creatinina) en niños sanos (azul) y niños con litiasis (rojo).

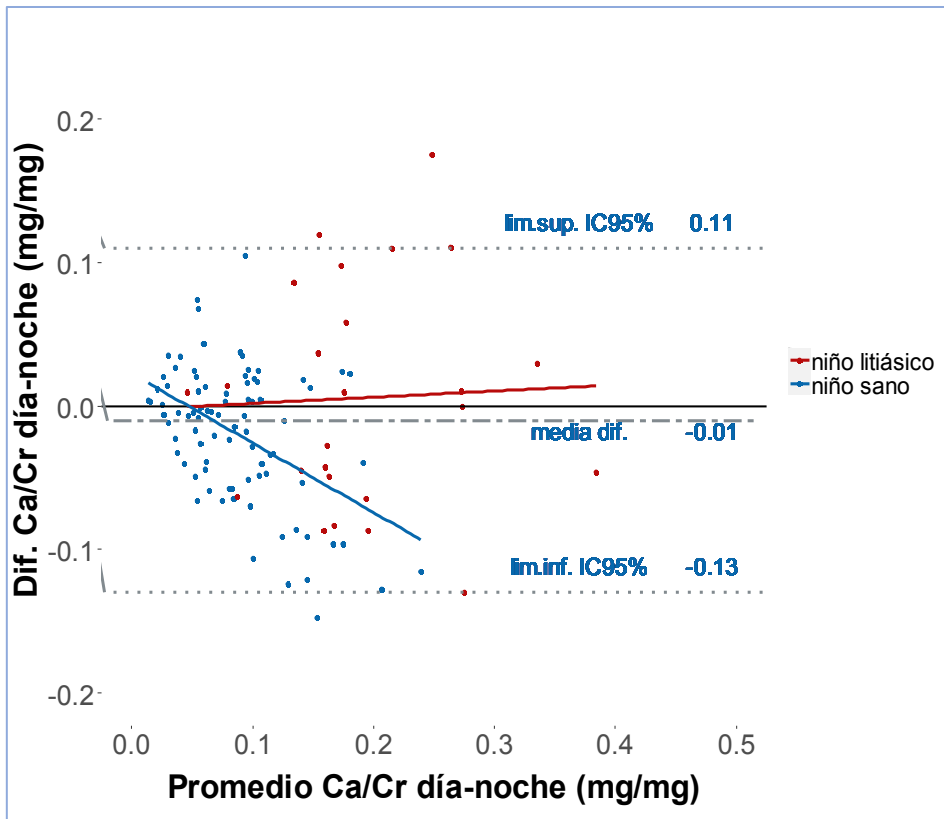
Cada punto corresponde a un sujeto. En el eje de abscisas se representa el promedio de los valores de las dos muestras de cada individuo y en el de ordenadas se sitúa la magnitud de la diferencia entre el valor de la muestra diurna menos el de la nocturna. De este modo, la en la línea negra se sitúan los valores en los que la resta entre el día y la noche es 0; si el punto se sitúa por encima de esta línea, significa que el valor del período diurno es superior; si el punto se sitúa por debajo de esta línea, que el valor nocturno es superior.



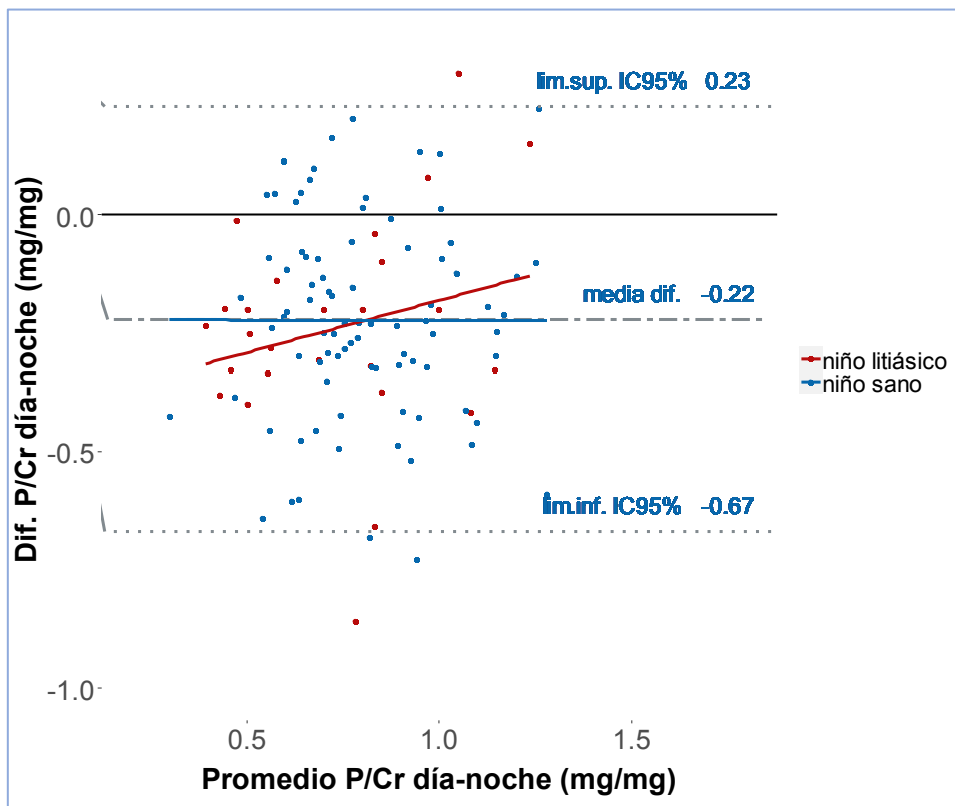
(A) Diuresis.



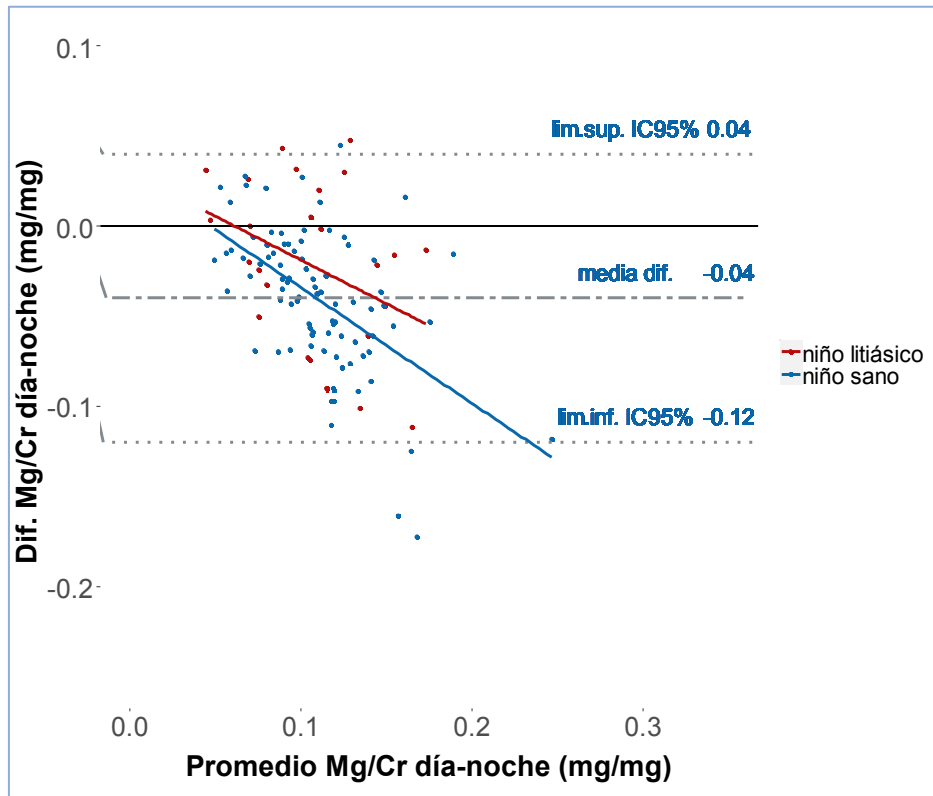
(B) pH urinario.



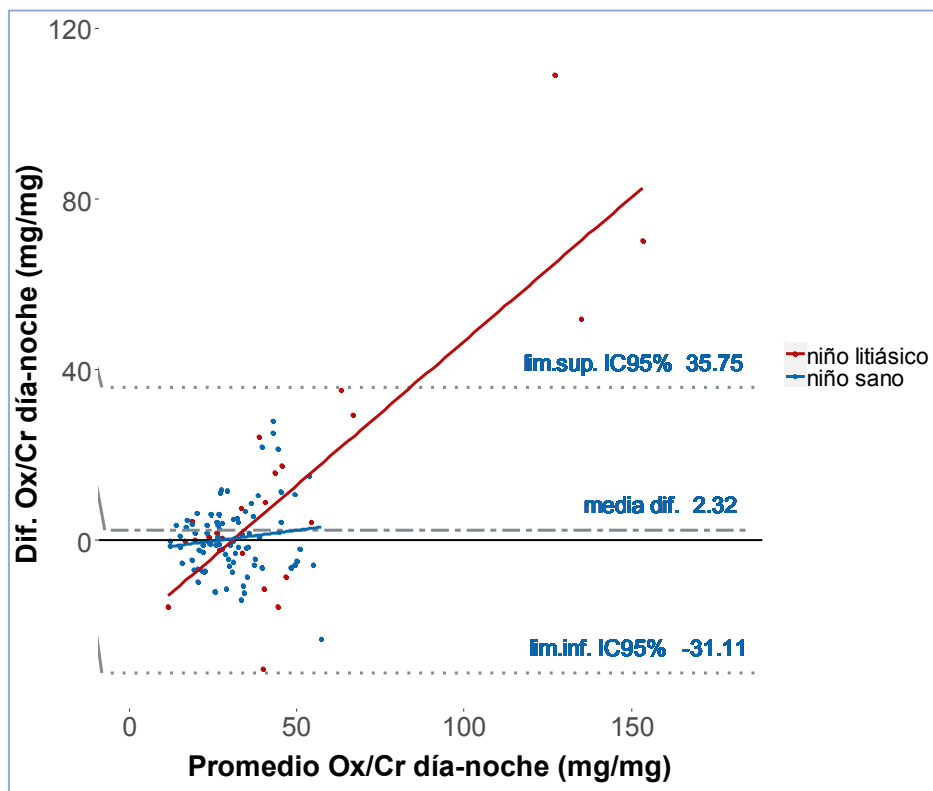
(C) Excreción de calcio.



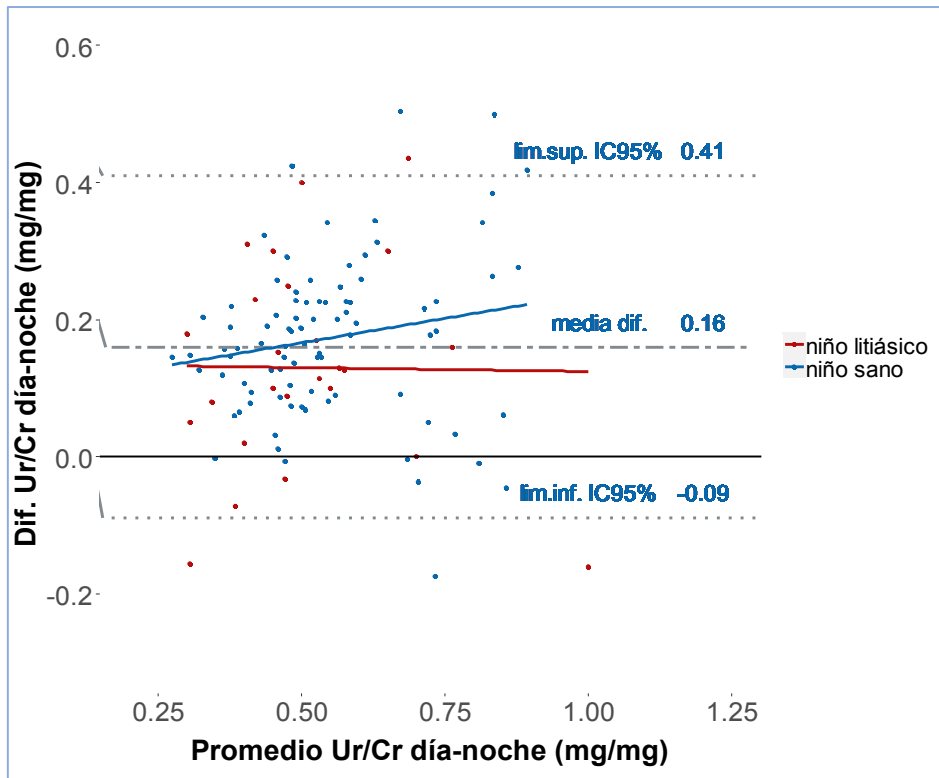
(D) Excreción de fósforo.



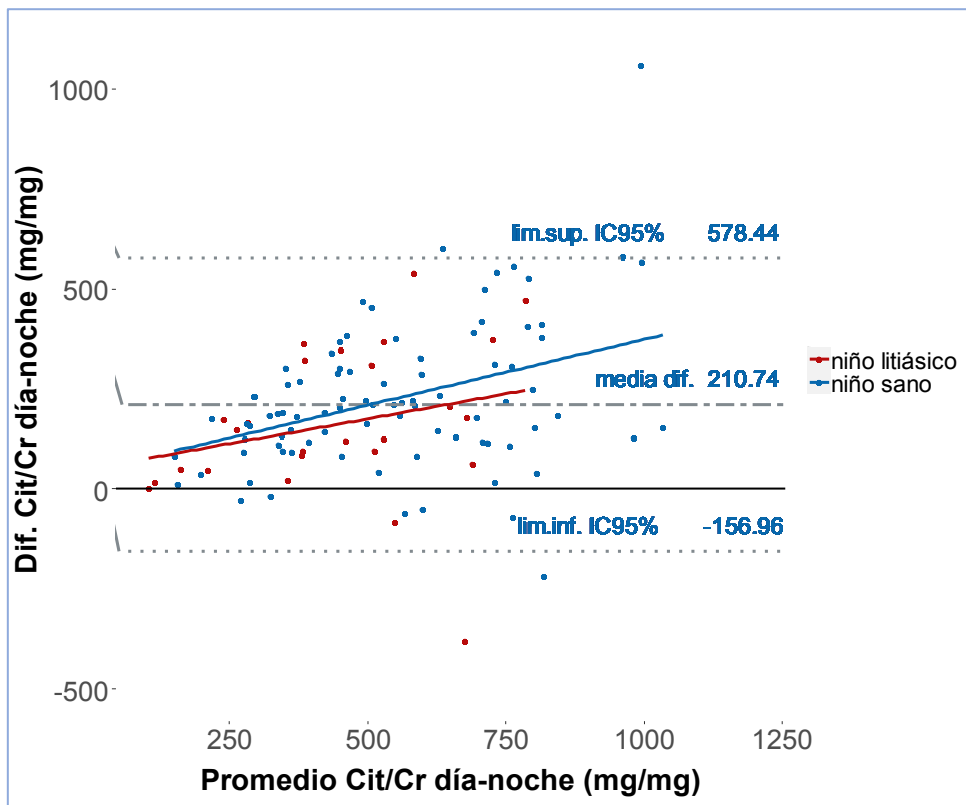
(E) Excreción de magnesio.



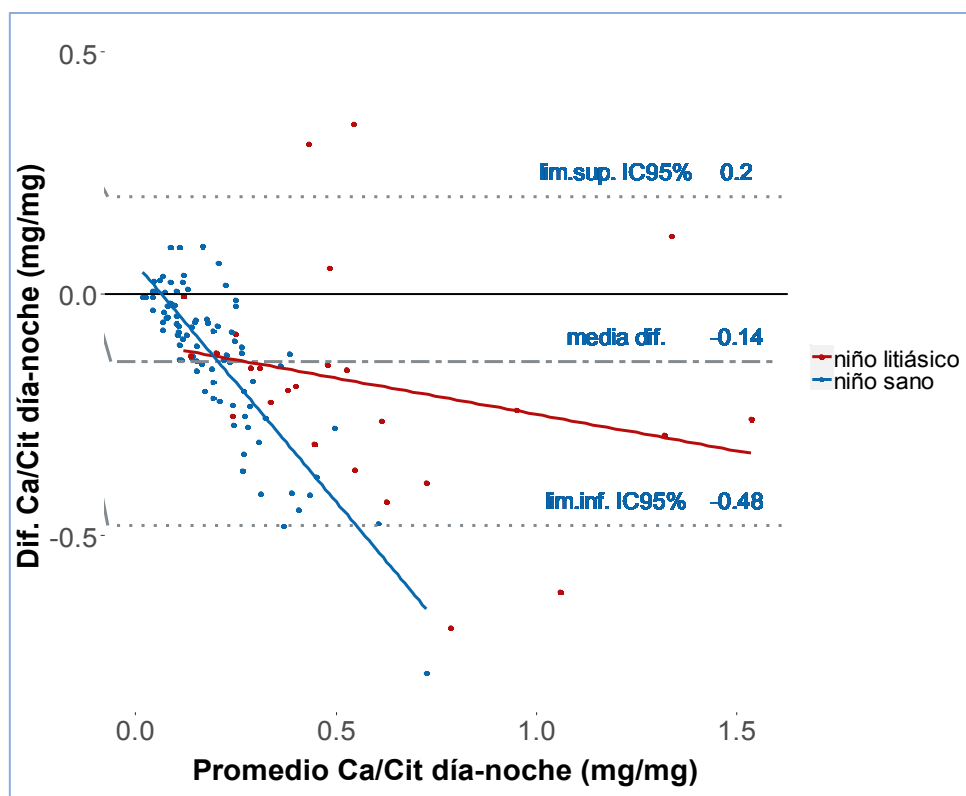
(F) Excreción de oxalato.



(G) Excreción de ácido úrico.



(H) Excreción de citrato.



(I) Cociente calcio/citrato.

Figura 16. Gráficos de Bland-Altman de las diferencias de las muestras de orina de 12 horas diurna y nocturna de cada niño, en relación los índices de (A) diuresis, (B) pH, (C) calcio/creatinina, (D) fósforo/creatinina, (E) magnesio/creatinina, (F) oxalato/creatinina (G) úrico/creatinina, (H) citrato/creatinina y (I) calcio/citrato. Las diferencias fueron calculadas restando los valores de la orina de 12 horas nocturna de la orina de 12 horas diurna. La línea negra indica que la diferencia entre los valores diurnos y nocturnos es 'cero'.

El estudio revela una disminución en el pH urinario en las muestras de orina de 12 horas nocturna respecto a la diurna en más del 80% de los niños, tanto en sanos como en litiasicos. Este porcentaje alcanza el 90% en relación a la disminución nocturna del cociente Ur/Cr y Cit/Cr. Para estos parámetros se observa una disminución nocturna en la mayoría de sujetos, independientemente del valor promedio que hayan mostrado los resultados de dicho parámetro.

Los índices urinarios Mg/Cr y P/Cr también muestran un patrón de variabilidad uniforme entre los dos períodos, alcanzando en este caso su pico de excreción durante la noche en el 80% del total de niños.

El índice Ox/Cr entre el período diurno y nocturno presenta diferencias en ambas direcciones: en algunos sujetos la excreción de oxalato es mayor durante el día y en otros, durante la noche.

En relación al índice Ca/Cr urinario, no se objetiva un patrón uniforme de eliminación, con porcentaje similar de niños con una mayor eliminación de calcio en la muestra diurna que en la nocturna. Los resultados del cociente Ca/Cit muestran también niveles más bajos por la noche en un 90% de los sujetos analizados, con diferencias estadísticamente significativas.

5.2.4. Diuresis y eliminación de solutos en población adulta

Los valores de la comparación del volumen y los solutos urinarios entre las muestras de orina de 12 horas diurna y nocturna en población adulta se exponen en las tablas 11 y 12.

Los resultados tanto en adultos sanos como en adultos litiásicos muestran un descenso de los valores de citrato y ácido úrico, así como una disminución del pH en las muestras de orina de 12 horas del período nocturno respecto al diurno, con diferencias estadísticamente significativas en ambos grupos. Los niveles de fósforo y magnesio son superiores en la muestra nocturna, con diferencias estadísticamente significativas. La diuresis también es menor durante la noche en ambos grupos, sin alcanzar significación estadística en los adultos litiásicos. No se detectan diferencias significativas entre el conjunto de las muestras de 12 horas diurna y nocturna en los niveles de oxalato y calcio.

Tabla 11. Valores de los parámetros urinarios implicados en el riesgo de cristalización en las muestras de orina de 12 horas de adultos sanos. Se expresa la mediana (p50) y los cuartiles (p25-p75) de los valores de cada soluto y de la diuresis.

	Adultos sanos		
	12h D	12 h N	Valor de p
Diuresis (ml/kg/h)	1,0 (0,7-1,6)	0,8 (0,6-1,2)	<0,001
Ca (mg)	90 (63-124)	78 (48-112)	0,031
Ca/Cr (mg/mg)	0,13 (0,09-0,16)	0,11 (0,07-0,18)	0,359
Ca (mg/kg/12h)	1,3 (0,9-1,9)	1,1 (0,7-1,7)	0,039
P (mg)	416 (323-504)	470 (362-576)	<0,001
P/Cr (mg/mg)	0,54 (0,47-0,64)	0,68 (0,58-0,78)	<0,001
P (mg/kg/12h)	5,9 (4,9-7,1)	6,8 (5,4-8,2)	<0,001
Mg (mg)	48 (38-58)	49 (38-64)	0,063
Mg/Cr (mg/mg)	0,06 (0,05-0,08)	0,07 (0,05-0,09)	0,042
Mg (mg/kg/12h)	0,7 (0,5-0,8)	0,7 (0,5-0,9)	0,081
Ox (mg)	12,5 (9,4-16,5)	11,2 (7,7-16,1)	0,214
Ox/Cr (mg/mg)	22,3(14,9-31,1)	20,9 (13,5-31,7)	0,528
Ox (mg/12h /1,73m²)	12,4 (8,3-15,4)	10,63 (6,7-15,5)	0,366
Ur (mg)	330 (265-418)	234 (179-290)	<0,001
Ur/Cr (mg/mg)	0,45 (0,40-0,52)	0,35 (0,30-0,42)	<0,001
Ur (mg/12h /1,73m²)	327 (268-388)	226 (189-279)	<0,001
Cit (mg)	405 (310-509)	283 (202-359)	<0,001
Cit/Cr (mg/g)	565 (422-774)	408 (281-581)	<0,001
Cit (mg/kg/12h)	6,12 (4,51-8,39)	4,35 (2,88-5,82)	<0,001
Ca/Cit (mg/mg)	0,21 (0,15-0,30)	0,24 (0,18-0,412)	<0,001

Ca: calcio, Mg: magnesio, Cit: citrato, P: fósforo, Ur: ácido úrico, Ox: oxalato, Cr: creatinina.
12hD: orina 12 horas diurna, 12hN: orina 12 horas nocturna.

Tabla 12. Valores de los parámetros urinarios implicados en el riesgo de cristalización en las muestras de orina de 12 horas de adultos litíasicos. Se expresa la mediana (p50) y cuartiles (p25-p75) de los valores de cada soluto y de la diuresis.

	Adultos litíasicos		
	12h D	12 h N	Valor de p
Diuresis (ml/kg/h)	1,1 (0,8-1,5)	0,9 (0,7-1,4)	0,042
Ca (mg)	113 (77-137)	105 (81-146)	0,341
Ca/Cr (mg/mg)	0,15 (0,11-0,20)	0,15 (0,12-0,21)	0,553
Ca (mg/kg/12h)	1,46 (1,12-2,05)	1,48 (1,15-2,10)	0,837
P (mg)	388 (317-475)	452 (367-535)	<0,001
P/Cr (mg/mg)	0,55 (0,46-0,68)	0,67 (0,58-0,80)	<0,001
P (mg/kg/12h)	5,7 (4,5-6,8)	6,5 (5,7-7,5)	<0,001
Mg (mg)	43,6 (35,4-59,7)	53,4 (42,7-62,8)	<0,001
Mg/Cr (mg/mg)	0,06 (0,05-0,08)	0,07 (0,06-0,1)	<0,001
Mg (mg/kg/12h)	0,6 (0,5-0,8)	0,8 (0,7-0,9)	<0,001
Ox (mg)	16 (13-20)	16 (13-21)	0,251
Ox/Cr (mg/mg)	31,5 (23,0-38,2)	31,60 (23,4-42,4)	0,062
Ox (mg/12h /1,73m²)	16,1 (13,0-19,5)	16,5 (12,9-20,4)	0,314
Ur (mg)	324 (261-402)	261(208-337)	<0,001
Ur/Cr (mg/mg)	0,47 (0,39-0,56)	0,40 (0,33-0,46)	<0,001
Ur (mg/12h /1,73m²)	312 (262-374)	249 (212-321)	<0,001
Cit (mg)	351 (237-450)	250 (191-337)	<0,001
Cit/Cr (mg/g)	482 (317-649)	371 (266-543)	<0,001
Cit (mg/kg/12h)	5,0 (3,5-7,0)	3,7 (2,7-5,4)	<0,001
Ca/Cit (mg/mg)	0,34 (0,21-0,46)	0,43 (0,26-0,63)	<0,001

Ca: calcio, Mg: magnesio, Cit: citrato, P: fósforo, Ur: ácido úrico, Ox: oxalato, Cr: creatinina.

12hD: orina 12 horas diurna, 12hN: orina 12 horas nocturna.

Las diferencias de los valores del cociente calcio/citrato entre las muestras de orina de 12 horas diurna y nocturna en adultos se muestran en la figura 17.

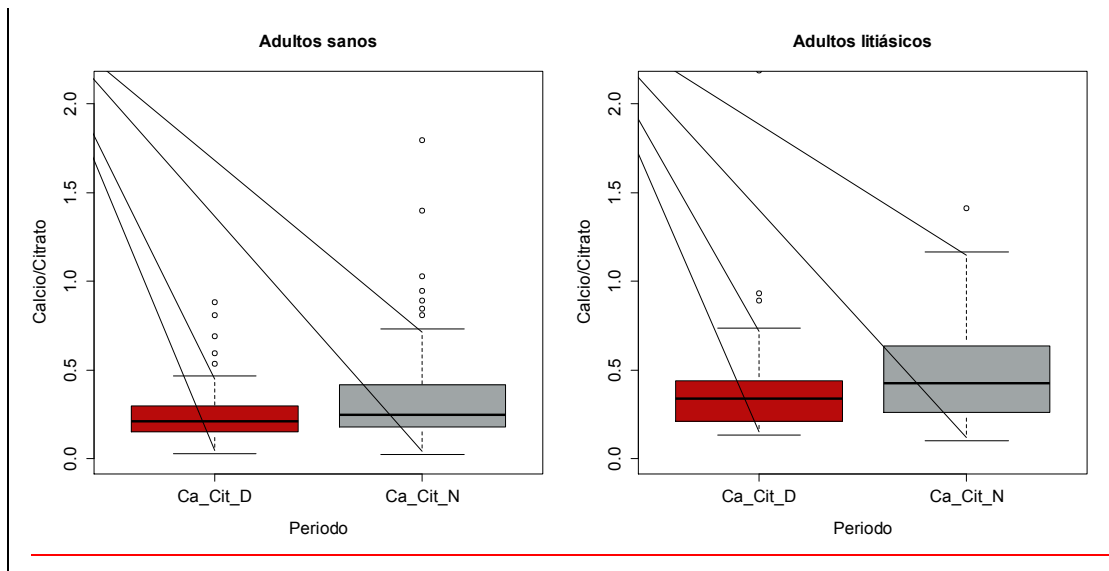
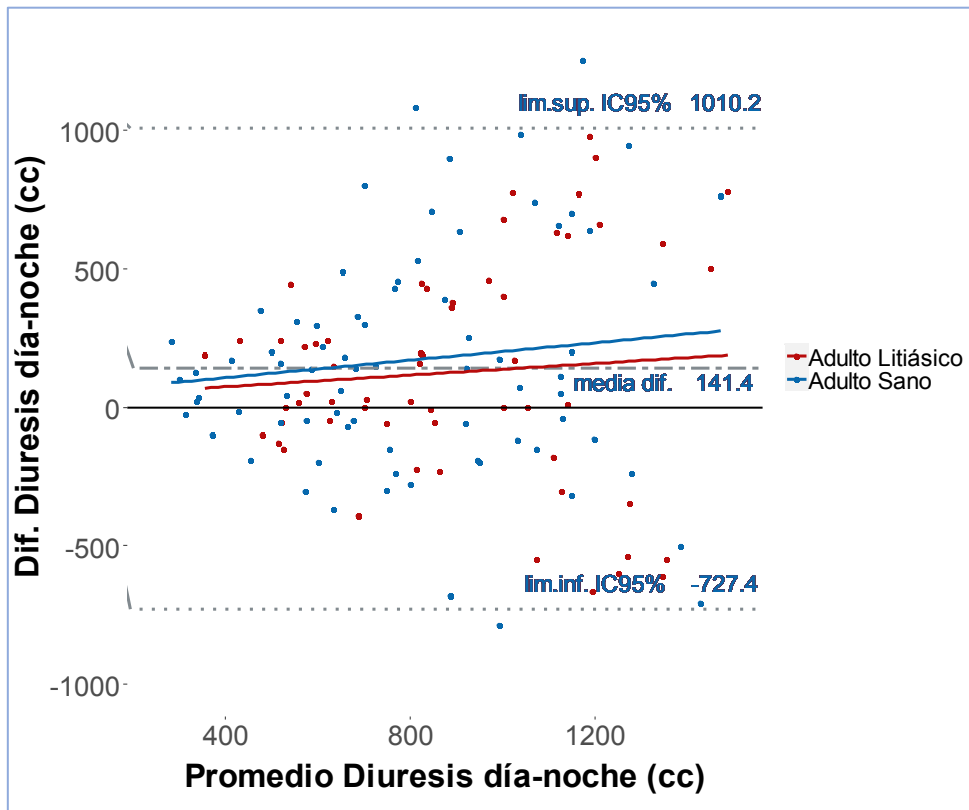


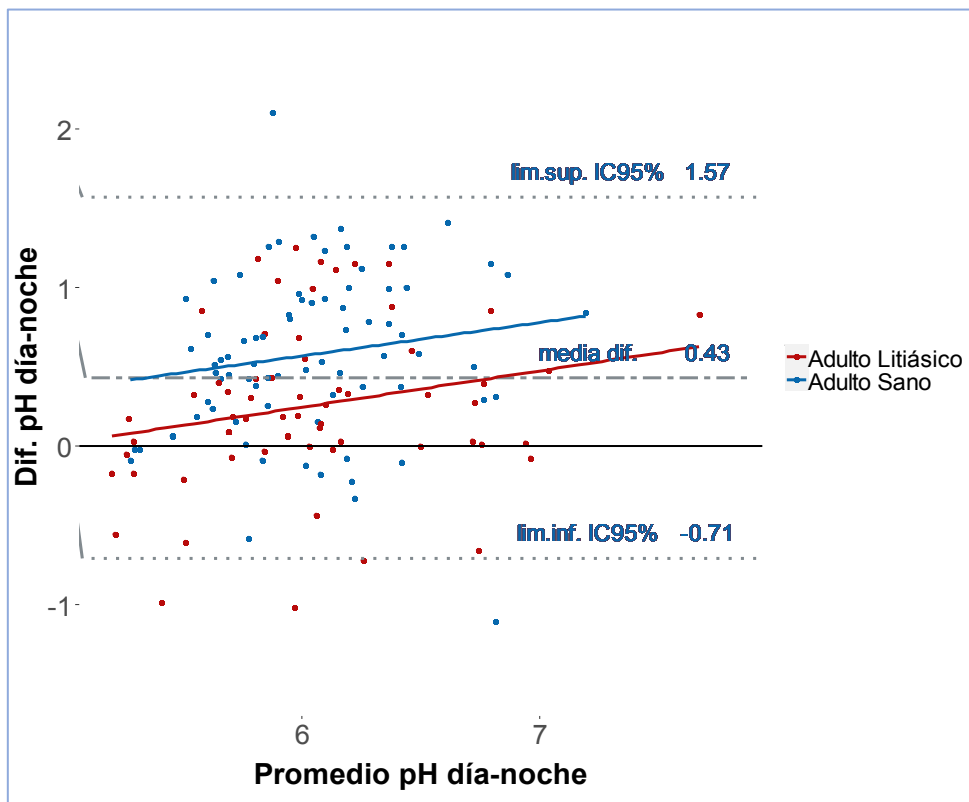
Figura 17. Diagrama de cajas de las diferencias del cociente Ca/Cit (calcio/citrato) entre las muestras de orina de 12 horas diurna (Ca/Cit_D) y nocturna (Ca/Cit_N) en adultos sanos y adultos litíasicos.

El cociente Ca/Cit es superior en la muestra de orina de 12 horas nocturna respecto a la orina diurna en adultos sanos y en adultos litíasicos, con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$).

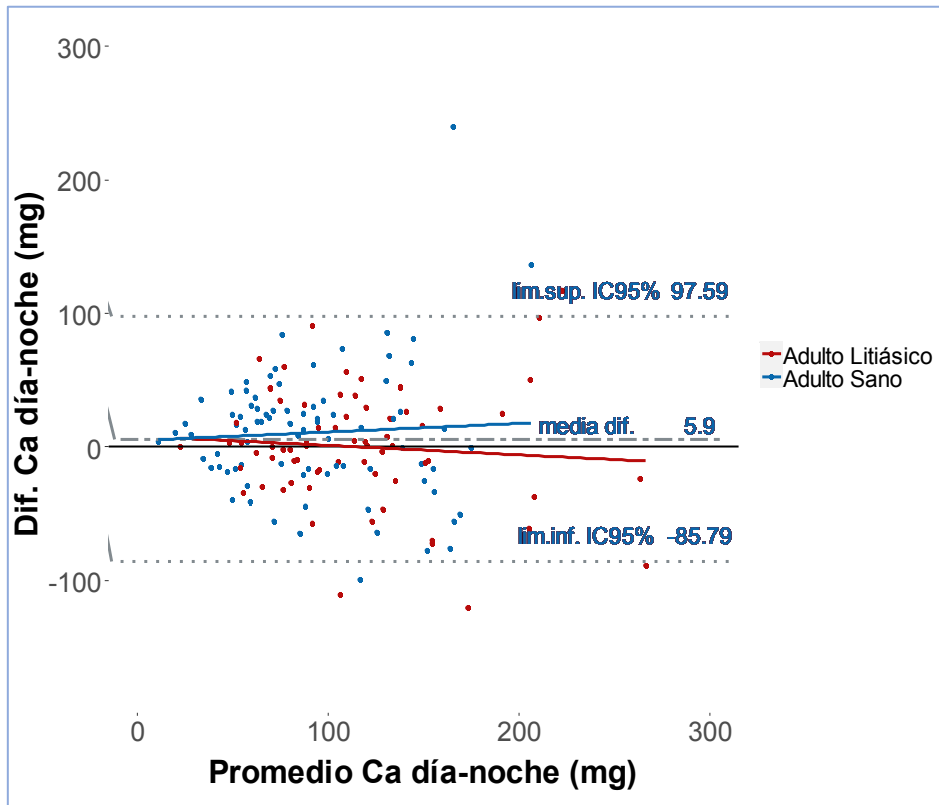
La figura 18 muestra los gráficos de Bland-Altman para la diuresis, el pH y las excreciones urinarias netas de los solutos analizados, en los grupos de adultos sanos (azul) y adultos con litiasis (rojo). Se representan las diferencias de los resultados obtenidos en las dos muestras de orina de cada uno de los sujetos del estudio. Cada punto corresponde a un sujeto. En el eje de abscisas se representa el promedio de los valores de las dos muestras de cada individuo y en el de ordenadas se sitúa la magnitud de la diferencia entre el valor de la muestra diurna menos el de la nocturna.



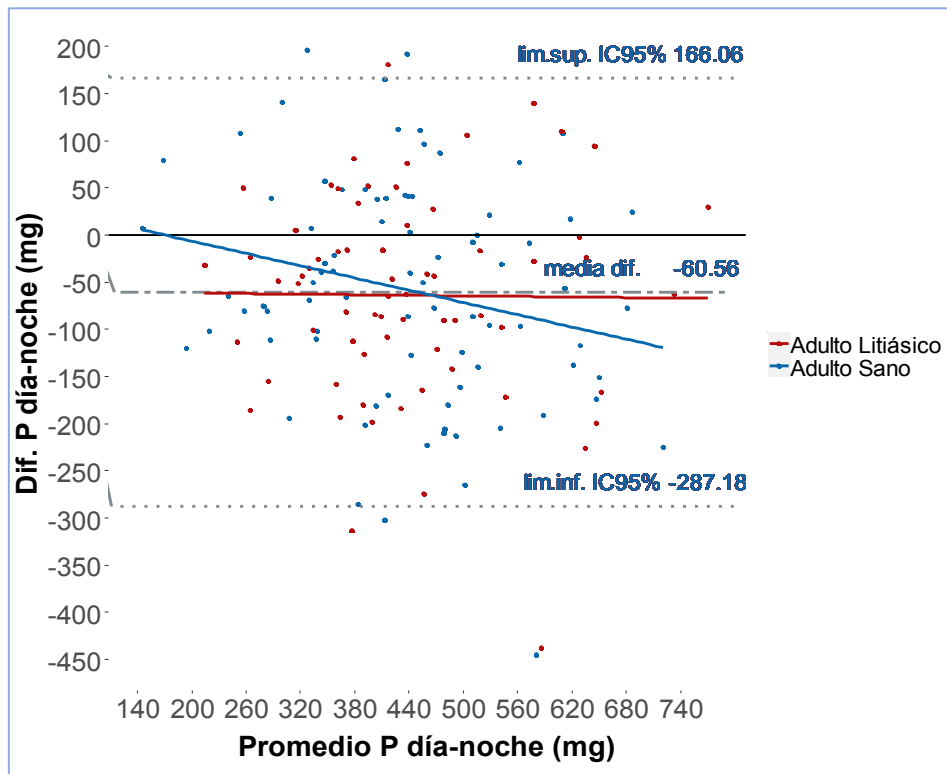
(A) Diuresis.



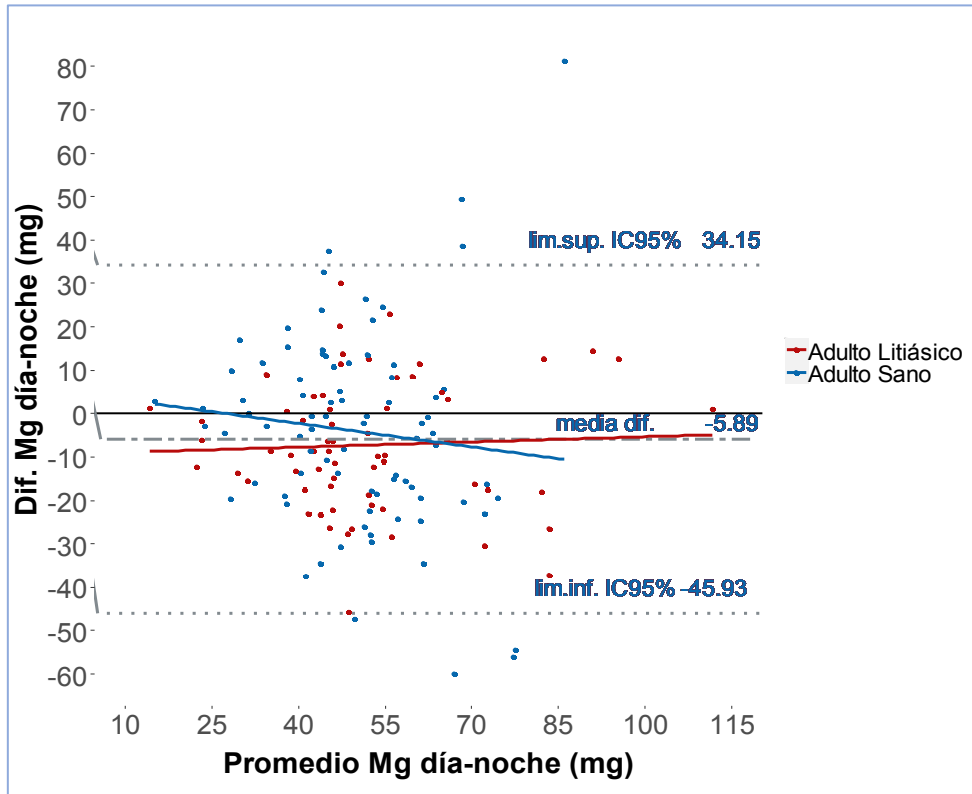
(B) pH urinario.



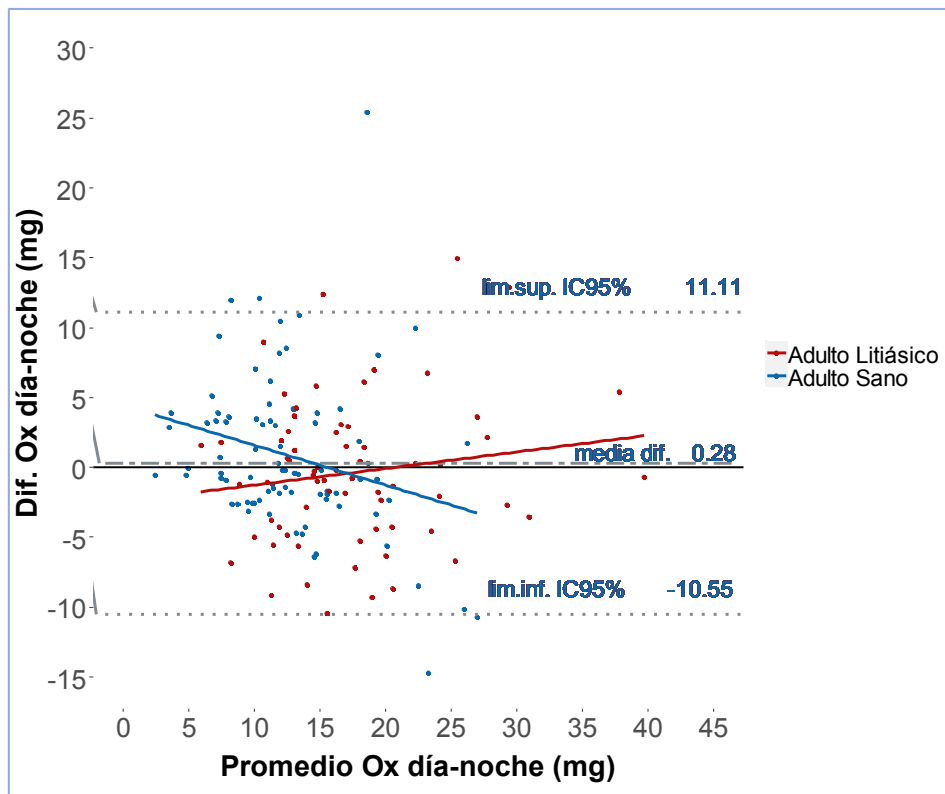
(C) Excreción de calcio.



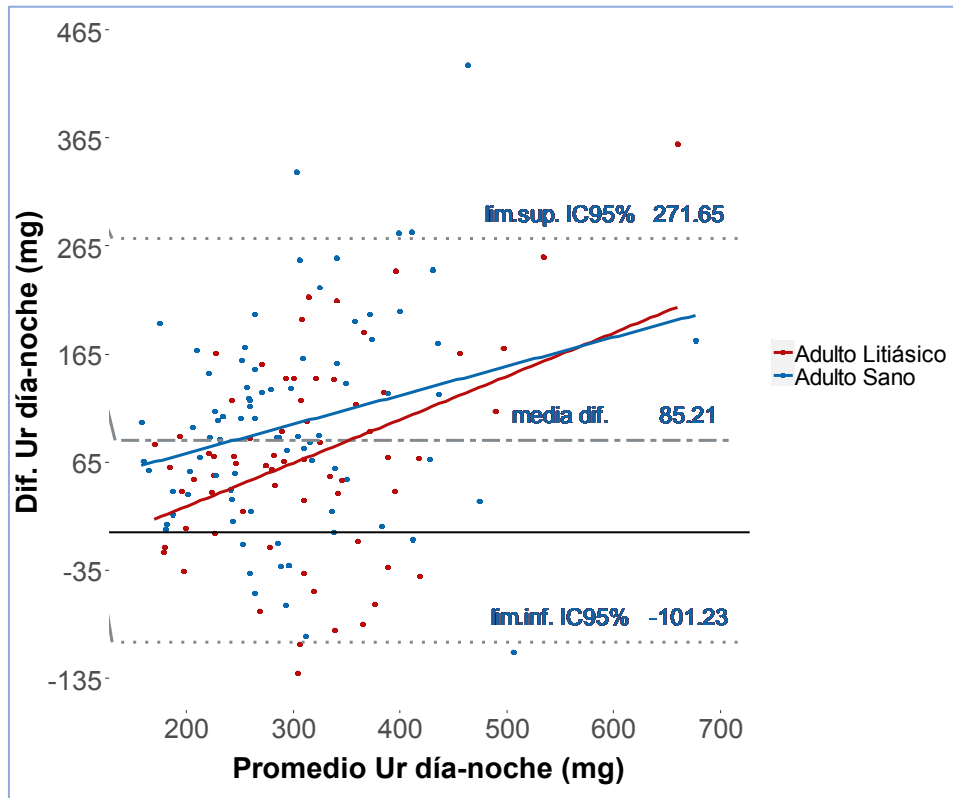
(D) Excreción de fósforo.



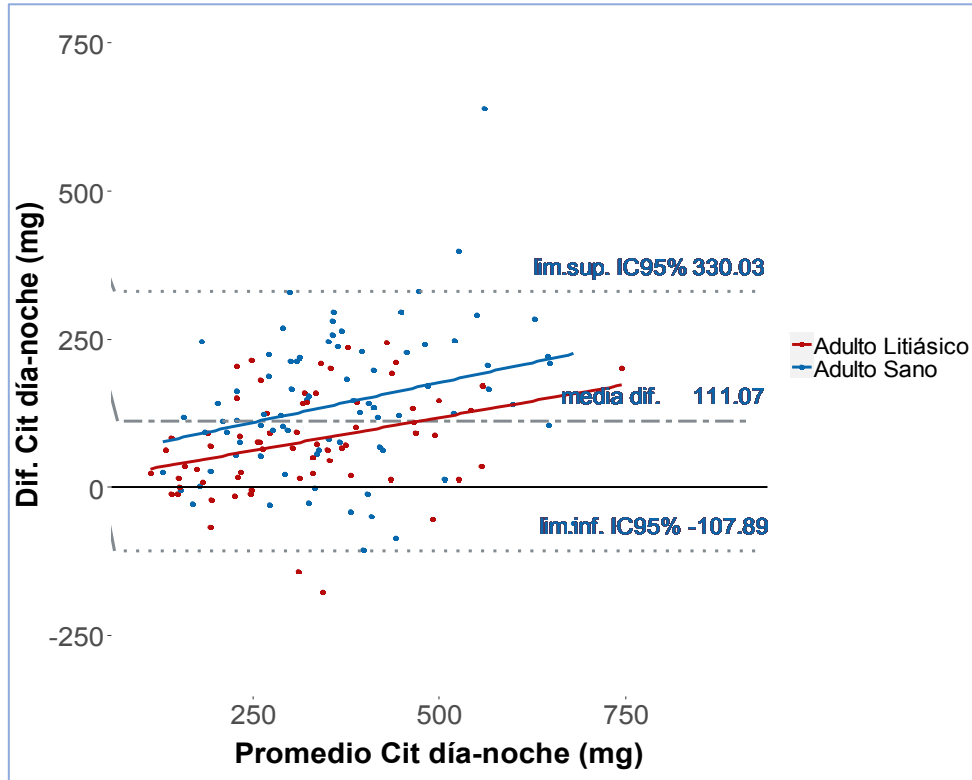
(E) Excreción de magnesio.



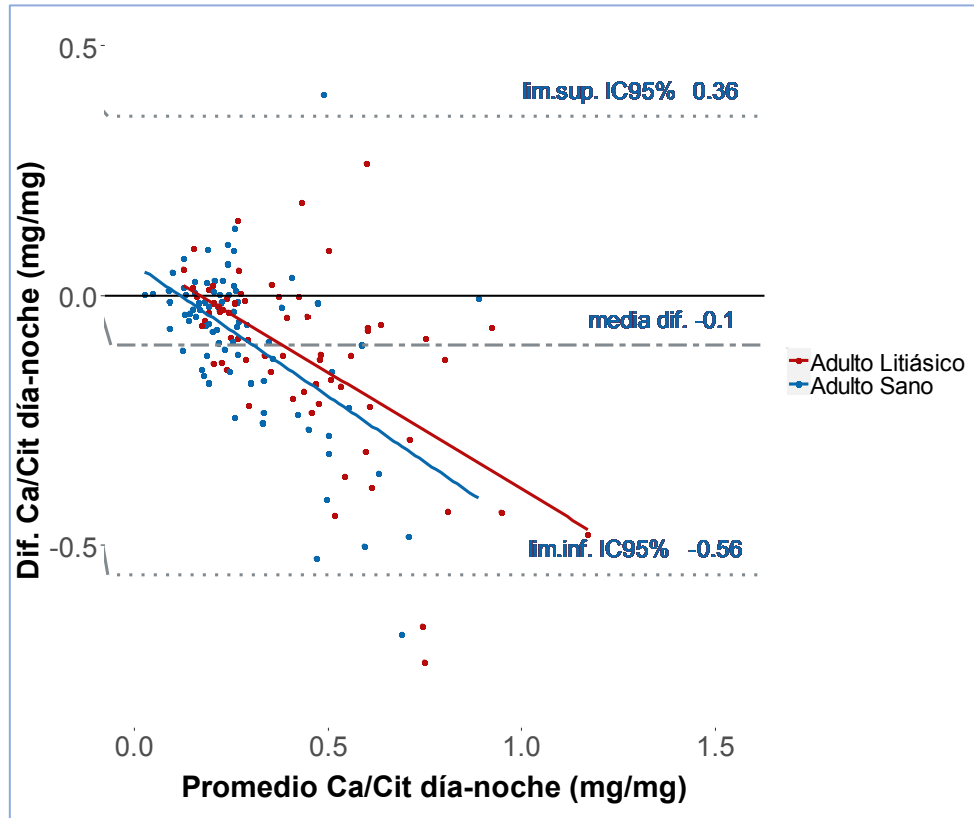
(F) Excreción de oxalato.



(G) Excreción de ácido úrico.



(H) Excreción de citrato.



(I) Cociente calcio/citrato.

Figura 18. Gráficos de Bland-Altman de las diferencias de las muestras de orina de 12 horas diurna y nocturna de cada adulto, en relación a (A) diuresis, (B) pH, (C) calcio/creatinina, (D) fósforo/creatinina, (E) magnesio/creatinina, (F) oxalato/creatinina (G) úrico/creatinina, (H) citrato/creatinina y (I) calcio/citrato. Las diferencias fueron calculadas restando los valores de la orina de 12 horas nocturna de la orina de 12 horas diurna. La línea gris indica que no existen diferencias entre los valores diurnos y nocturnos.

Los resultados muestran una disminución del pH urinario durante el período nocturno en hasta un 90 % de los sujetos, del mismo modo que disminuye la excreción de úrico y citrato en este período. En otros solutos, como el calcio, el oxalato o el magnesio, no se observa un patrón de eliminación uniforme (algunos casos presentan mayor eliminación durante el día y otros por la noche). En hasta el 70% de los adultos el valor del cociente Ca/Cit es más elevado en la muestra de 12 horas nocturna.

5.3. Comparación de los resultados de los parámetros urinarios relacionados con la cristalización entre la muestra de orina de 12 horas nocturna y la muestra de orina de 24 horas

5.3.1. Correlación entre los resultados de los índices urinarios en la orina de 12 horas nocturna y la orina de 24 horas

Para cada soluto, se ha calculado la correlación entre los valores de los índices urinarios en orina de 12 horas nocturna y en la orina de 24 horas. Se ha realizado el análisis mediante el cálculo del coeficiente de correlación de Spearman.

Tabla 13. Valores del coeficiente de correlación de Spearman (*r*), entre los índices urinarios de las muestras de orina de 12 horas nocturna y de orina de 24 horas para cada uno de los solutos analizados.

	Niños sanos	Niños litíasicos	Adultos sanos	Adultos litíasicos
Ca/Cr	0,92	0,87	0,91	0,92
P/Cr	0,86	0,90	0,90	0,89
Mg/Cr	0,91	0,92	0,89	0,94
Ox/Cr	0,90	0,96	0,84	0,89
Ur/Cr	0,89	0,76	0,87	0,93
Cit/Cr	0,92	0,92	0,92	0,97
Ca/Cit	0,92	0,90	0,91	0,96

Ca/Cr: calcio/creatinina, Ox/Cr: oxalato/creatinina, P/Cr: fósforo/creatinina, Mg/Cr: magnesio/creatinina, Ur/Cr: úrico/creatinina, Cit/Cr: citrato/creatinina, Ca/Cit: calcio/citrato.

Los valores de los coeficientes de correlación entre la muestra de 12 horas nocturna y la muestra de 24 horas son cercanos a 1 en todos los parámetros estudiados y en todos los grupos de población (siendo discretamente inferiores en la población de niños litíasicos).

5.3.2. Comparación de los resultados reales obtenidos en orina de 24 horas con los valores de 24 horas extrapolados a partir de los valores en la muestra de 12 horas nocturna.

Este apartado del estudio tiene por objeto evaluar las diferencias de los parámetros urinarios entre la muestra de orina del día entero (considerada como test de referencia para el diagnóstico de las alteraciones urinarias de los pacientes con litiasis) y la fracción de orina de 12 horas nocturna, que es un tipo de muestra que también se usa con frecuencia en la práctica clínica.

Los resultados del total de 24 horas se han obtenido de dos maneras. Por una parte, los valores de 24 horas “reales” que hemos obtenido al sumar los resultados de la muestra de 12 horas nocturna y de 12 horas diurna de ese mismo día. Por otro lado se muestran los resultados “extrapolados”, es decir, los esperados en caso de que la tasa de excreción de cada soluto fuera constante a lo largo del día (corresponde al doble de los valores de 12 horas). Para este cálculo, en nuestro trabajo hemos usado la orina de 12 horas nocturna. Se expresan los resultados en niños (tabla 14) y adultos (tabla 15).

Tabla 14. Resultados de la mediana (p50) del volumen urinario y de excreción de solutos en niños sanos (A) y niños litíasicos (B). Se presenta el valor real obtenido en orina de 12 horas nocturna, el real en 24 horas y el valor que se esperaría en 24 horas al multiplicar por dos los resultados de la orina nocturna. El porcentaje de diferencia se calcula entre los dos valores de la orina de 24 horas: $(\text{real} - \text{extrapolado}) / \text{real} \times 100$.

(A)

	Niños sanos			
	12 horas nocturna	24 horas extrapolado	24 horas real	% diferencia
Volumen (ml)	360	720	875	18
Ca (mg)	33	65	67	3
P (mg)	380	760	688	-10
Mg (mg)	54	108	94	-15
Ox (mg)	9	18	20	9
Ur (mg)	181	363	470	23
Cit (mg)	169	338	454	25

(B)

	Niños litíasicos			
	12 horas nocturna	24 horas extrapolado	24 horas real	% diferencia
Volumen (ml)	500	1000	1014	1
Ca (mg)	76	153	147	-4
P (mg)	346	693	577	-20
Mg (mg)	47	95	84	-13
Ox (mg)	11	21	24	13
Ur (mg)	167	334	390	14
Cit (mg)	153	306	394	22

Ca: calcio, P: fósforo, Mg: magnesio, Ox: oxalato, Ur: ácido úrico, Cit: citrato, Cr: creatinina.

Tabla 15. Resultados de la mediana (p50) del volumen urinario y de excreción de solutos en niños sanos (A) y niños litíasicos (B). Se presenta el valor real obtenido en orina de 12 horas nocturna, el real en 24 horas y el valor que se esperaría en 24 horas al multiplicar por dos los resultados de la orina nocturna. El porcentaje de diferencia se calcula entre los dos valores de la orina de 24 horas: $(\text{real} - \text{extrapolado}) / \text{real} \times 100$.

(A)

	Adultos sanos			
	12 horas nocturna	24 horas extrapolado	24 horas real	% diferencia
Volumen (ml)	650	1300	1545	15,8
Ca (mg)	78	156	172	9
P (mg)	470	941	880	-7
Mg (mg)	49	97	99	1
Ox (mg)	11	22	24	7
Ur (mg)	234	470	570	17
Cit (mg)	283	566	712	20

(B)

	Adultos litíasicos			
	12 horas nocturna	24 horas extrapolado	24 horas real	% diferencia
Volumen (ml)	780	1560	1778	12
Ca (mg)	104	208	219	5
P (mg)	452	904	833	-8
Mg (mg)	53	107	95	-12
Ox (mg)	16	32	32	1
Ur (mg)	261	522	613	15
Cit (mg)	249	498	623	20

Ca: calcio, P: fósforo, Mg: magnesio, Ox: oxalato, Ur: ácido úrico, Cit: citrato, Cr: creatinina.

Al comparar los valores extrapolados o esperados a partir de la orina nocturna con los valores reales de excreción de solutos en orina de 24 horas, se pone de nuevo de manifiesto que la excreción de solutos a lo largo del día no es uniforme.

El hallazgo de un porcentaje de la diferencia con un valor positivo, indica que la excreción diurna es superior a la de la noche y, por tanto, que el cálculo de los resultados de 24 horas a partir de la orina de 12 horas nocturna muestra magnitudes inferiores a los valores reales. Por el contrario, los porcentajes de diferencia negativos indican una mayor magnitud de eliminación en el período nocturno, por lo que la extrapolación sobreestima la cantidad que realmente se elimina en el día entero.

Los porcentajes de diferencia del volumen urinario y de la eliminación de solutos obtenidos al comparar ambas formas de obtener los resultados se resumen a continuación (tabla 16).

Tabla 16. Porcentajes de diferencia entre los valores de 24 horas reales y los extrapolados a partir de la muestra de 12 horas nocturna.

	Niños		Adultos	
	Sanos	Litiásicos	Sanos	Litiásicos
Volumen (%dif)	18	1	15,8	12
Ca (%dif)	3	-4	9,3	5
P (%dif)	-11	-20	-7	-8
Mg (%dif)	-15	-13	1	-12
Ox (%dif)	9,5	13	7	1
Ur (%dif)	23	14	18	15
Cit (%dif)	25	22	20	20

Ca: calcio, P: fósforo, Mg: magnesio, Ox: oxalato, Ur: ácido úrico, Cit: citrato, Cr: creatinina

Se observa cómo, de forma constante en todos los grupos, el volumen urinario y la excreción de oxalato, úrico y citrato muestra valores positivos de porcentajes de diferencia. En el calcio, esto ocurre también en todos los grupos excepto en el de niños litiásicos. Por el contrario, para la excreción de fósforo los porcentajes de diferencia son negativos en los cuatro grupos del estudio. En el magnesio, también se observan valores extrapolados superiores a los reales, excepto en adultos sanos (pero en este caso la magnitud de la diferencia es tan solo del 1%).

5.3.3. Comparación de los valores de los índices urinarios entre las muestra de orina de 12 horas nocturna y las de orina de 24 horas en los cuatro grupos de población

5.3.3.1. Comparación de los índices urinarios en población infantil

Valores de los índices urinarios de las sustancias promotoras (calcio, fósforo, oxalato y úrico) y de las inhibidoras de la cristalización (citrato y magnesio) en las muestras de orina de 12 horas nocturna y de orina de 24 horas de los cuatro grupos de población. Los resultados para la población infantil se muestran en la tabla 17.

Tabla 17. Mediana (p50) de los índices urinarios de los solutos implicados en la cristalización urinaria en las muestras de orina de 12 horas nocturna y de orina de 24 horas en niños sanos y niños litíasicos.

	Niños sanos		Niños litíasicos	
	12 horas nocturna	24 horas	12 horas nocturna	24 horas
Ca/Cr (mg/mg)	0,08	0,08	0,18	0,16
P/Cr (mg/mg)	0,90	0,78	0,78	0,65
Mg/Cr (mg/mg)	0,13	0,11	0,12	0,10
Ox/Cr (mmol/mol)	29,7	29,6	28,6	30,1
Ur/Cr (mg/mg)	0,42	0,51	0,42	0,47
Cit/Cr (mg/g)	410	541	341	448

Ca/Cr: calcio/creatinina, P/Cr: fósforo/creatinina, Mg/Cr: magnesio/creatinina, Ox/Cr; oxalato/creatinina, Ur/Cr: úrico/creatinina, Cit/Cr: citrato/creatinina, Ca/Cit: calcio/citrato.

La comparación de los resultados del índice Ca/Cit entre las muestras de orina de 12 horas nocturna y 24 horas se muestran en la figura 19.

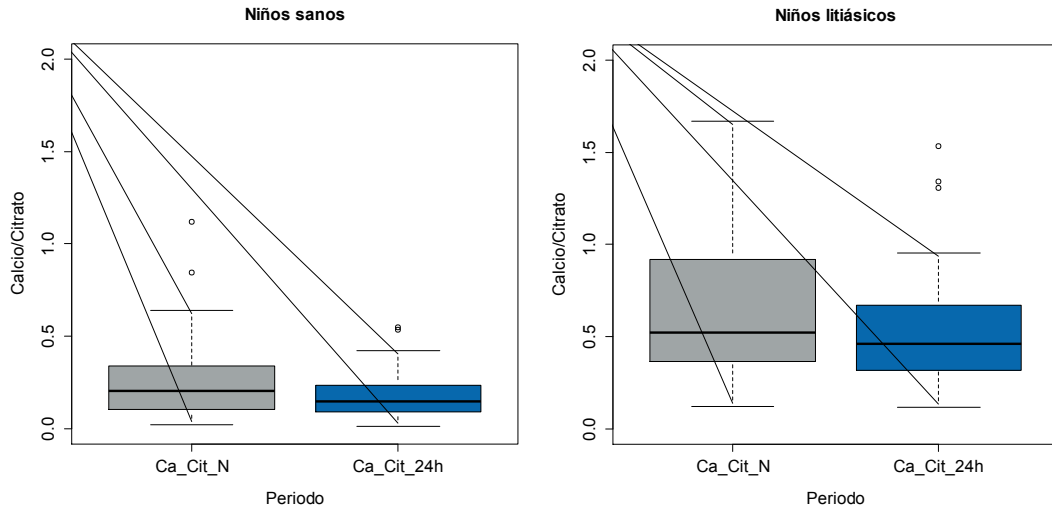


Figura 19. Valores del cociente Calcio/Citrato en las muestras de orina de 12 horas nocturna (Ca/Cit N) y la muestra de orina de 24 horas (Ca/Cit 24h) en niños sanos y litíasicos.

Los valores del cociente Ca/Cit son superiores en la muestra de 12 horas nocturna respecto al total de 24 horas en ambos grupos de niños. Además cabe destacar que en ambas muestras, los valores del cociente son mayores en el grupo de litíasicos.

5.3.3.2. Comparación de los índices urinarios en población adulta

Los resultados de las medianas (p50) de los índices urinarios entre las muestras de 12 horas nocturna y de 24 horas en población adulta se muestran en la tabla 18.

Tabla 18. Mediana de los índices urinarios de los solutos implicados en la cristalización urinaria en las muestras de orina de 12 horas nocturna y de orina de 24 horas en adultos sanos y adultos litiásicos.

	Adultos sanos		Adultos litiásicos	
	12 horas nocturna	24 horas	12 horas nocturna	24 horas
Ca/Cr (mg/mg)	0,11	0,11	0,15	0,15
P/Cr (mg/mg)	0,68	0,61	0,67	0,60
Mg/Cr (mg/mg)	0,07	0,07	0,07	0,07
Ox/Cr (mmol/mol)	20,9	24,3	31,6	30,7
Ur/Cr (mg/mg)	0,35	0,41	0,40	0,41
Cit/Cr (mg/g)	408	504	371	433

Ca/Cr: calcio/creatinina, P/Cr: fósforo/creatinina, Mg/Cr: magnesio/creatinina, Ox/Cr; oxalato/creatinina, Ur/Cr: úrico/creatinina, Cit/Cr: citrato/creatinina, Ca/Cit: calcio/citrato.

La comparación de los resultados del índice Ca/Cit entre las muestras de orina de 12 horas nocturna y 24 horas en adultos se muestran en la figura 20.

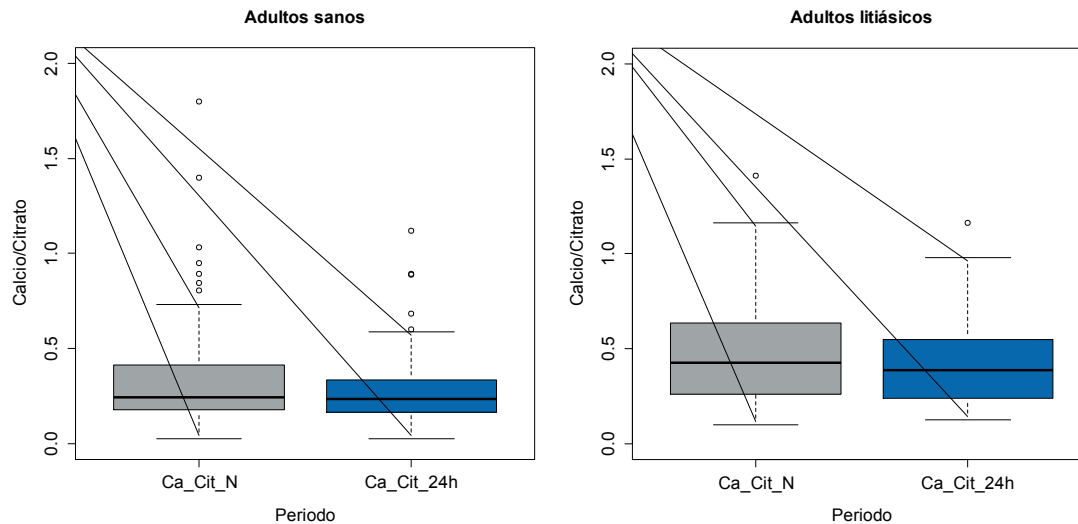


Figura 20. Valores del cociente calcio/citrato en las muestras de orina de 12 horas nocturna (Ca/Cit N) y la muestra de orina de 24 horas (Ca/Cit 24h) en adultos sanos y litiasicos.

Los valores del cociente Ca/Cit en adultos discretamente superiores en la orina nocturna respecto a la muestra de orina de 24 horas tanto en el grupo de sanos como en el grupo de litiasicos.

5.3.4. Análisis de la concordancia de diagnósticos de las alteraciones metabólicas de cada sujeto en la muestra de orina de 24 horas y la muestra de orina de 12 horas nocturna en la población infantil (niños sanos y litiasicos) y adulta (adultos sanos y litiasicos)

Utilizando los valores de referencia y puntos de corte según las guías europeas de litiasis renal de uso clínico habitual en nuestro país (ver sección de metodología) se evalúa la presencia de alteraciones metabólicas en los sujetos del estudio, comparando los diagnósticos que obtenemos cuando esta evaluación se hace con los resultados en la muestra de 12 horas nocturna y la muestra de 24 horas. El diagnóstico se ha realizado en base a los índices urinarios debido a que no disponemos de valores de referencia de las muestras de orina fraccionada de 12 horas. Hemos considerado dos categorías: no alterado y alterado, utilizando el mismo punto de corte para cada una de las muestras.

5.3.5. Concordancia de diagnósticos en población infantil

Los resultados de los diagnósticos de las principales alteraciones metabólicas y de la alteración del cociente Ca/Cr en niños se muestran a continuación (tablas 19-25).

Tabla 19. Número de niños con los cocientes $Ca/Cr \geq 0,20 \text{ mg/mg}$ y $< 0,20 \text{ mg/mg}$ en (A) niños sanos y (B) niños litiásicos, en las muestras de orina de 12 horas nocturna y de 24 horas. Se expresa el número absoluto y el porcentaje (%) respecto al total de niños de cada grupo.

(A) Niños sanos (N=87)

		24 horas	
		Ca/Cr alterado	Ca/Cr no alterado
12 horas nocturna	Ca/Cr alterado	1 (1%)	6 (7%)
	Ca/Cr no alterado	0 (0%)	80 (92%)

(B) Niños litiásicos (N=26)

		24 horas	
		Ca/Cr alterado	Ca/Cr no alterado
12 horas nocturna	Ca/Cr alterado	7 (28%)	4 (15%)
	Ca/Cr no alterado	3 (11%)	12 (46%)

Ca/Cr: calcio/creatinina.

En relación al cociente Ca/Cr, los resultados muestran que todos los niños sanos con alteración del cociente en la muestra de orina de 24 horas, muestran dicha alteración en la muestra de 12 horas nocturna. En el grupo de niños litiásicos se observan tres niños con el índice Ca/Cr alterado en la muestra de orina de 24 horas que no presentan dicha alteración en el análisis de la orina de 12 horas nocturna.

Tabla 20. Número de niños con los cocientes Cit/Cr alterados en (A) niños sanos y (B) niños litiásicos en las muestras de orina de 12 horas nocturna y 24 horas. Se expresa el número absoluto y el porcentaje (%) respecto al total de niños de cada grupo.

(A) Niños sanos (N=87)

		24 horas	
		Cit/Cr alterado	Cit/Cr no alterado
12 horas nocturna	Cit/Cr alterado	4 (5%)	11 (13%)
	Cit/Cr no alterado	0 (0%)	72 (82%)

(B) Niños litiásicos (N=26)

		24 horas	
		Cit/Cr alterado	Cit/Cr no alterado
12 horas nocturna	Cit/Cr alterado	5 (19%)	4 (15%)
	Cit/Cr no alterado	0 (0%)	17 (66%)

Cit/Cr: cociente citrato/creatinina.

Respecto al índice Cit/Cr en niños, los resultados muestran que todos los sujetos con índice citrato/creatinina alterado en orina de 24 horas, muestran dicha alteración en el análisis de la muestra de 12 horas nocturna.

Tabla 21. Número de niños con los cocientes Ca/Cit mg/mg $\geq 0,33$ y $< 0,33$ en (A) niños sanos y (B) niños litíasicos en las muestras de orina de 12 horas nocturna y orina de 24 horas. Se expresa el número absoluto y el porcentaje (%) respecto al total de niños de cada grupo.

(A) Niños sanos (N=87)

		24 horas	
		Ca/Cit alterado	Ca/Cit no alterado
12 horas nocturna	Ca/Cit alterado	7 (8%)	16 (18%)
	Ca/Cit no alterado	0 (0%)	64(74%)

Ca/Cr: calcio/creatinina.

(B) Niños litíasicos (N=26)

		24 horas	
		Ca/Cit alterado	Ca/Cit no alterado
12 horas nocturna	Ca/Cit alterado	18 (70%)	3(11%)
	Ca/Cit no alterado	1 (4%)	4 (15%)

Ca/Cit: cociente calcio/citrato.

En relación al cociente Ca/Cit, los resultados muestran que un niño (del grupo de litíasicos) con alteración del índice Ca/Cit en la orina de 24 horas no muestra dicha alteración en el análisis de la muestra de 12 horas nocturna.

Tabla 22. Número de niños con los cocientes Mg/Cr en (A) niños sanos y (B) niños litíasicos en las muestras de orina de 12 horas nocturna y 24 horas. Se expresa el número absoluto y el porcentaje (%) respecto al total de niños de cada grupo.

(A) Niños sanos (N=87)

		24 horas	
		Mg/Cr alterado	Mg/Cr no alterado
12 horas nocturna	Mg/Cr alterado	2 (3%)	1 (1%)
	Mg/Cr no alterado	1 (1%)	83 (95%)

(B) Niños litíasicos (N=26)

		24 horas	
		Mg/Cr alterado	Mg/Cr no alterado
12 horas nocturna	Mg/Cr alterado	2 (8%)	0 (0%)
	Mg/Cr no alterado	0 (0%)	24 (92%)

Mg/Cr: cociente magnesio/creatinina.

Los resultados de la detección de la alteración del cociente Mg/Cr en niños muestran un único sujeto (en el grupo de los sanos) con alteración del índice en orina la de 24 horas que no presenta dicha alteración en la muestra de 12 horas nocturna.

Tabla 23. Número de niños con los cocientes P/Cr alterados en (A) niños sanos y (B) niños litíasicos en las muestras de orina de 12 horas nocturna y 24 horas. Se expresa el número absoluto y el porcentaje (%) respecto al total de niños de cada grupo.

(A) Niños sanos (N=87)

		24 horas	
		P/Cr alterado	P/Cr no alterado
12 horas nocturna	P/Cr alterado	19 (22%)	16 (18%)
	P/Cr no alterado	1 (1%)	51 (59%)

(B) Niños litíasicos (N=26)

		24 horas	
		P/Cr alterado	P/Cr no alterado
12 horas nocturna	P/Cr alterado	5 (19%)	4 (16%)
	P/Cr no alterado	0 (0%)	17 (65%)

P/Cr: cociente fósforo/creatinina.

El análisis de la alteración del cociente P/Cr revela que un niño (del grupo de sanos) con cociente alterado en la muestra de 24 horas no presenta dicha alteración en el análisis exclusivo del período nocturno.

Tabla 24. Número de niños con los cocientes Ox/Cr alterados en (A) niños sanos y (B) niños litiásicos en las muestras de orina de 12 horas nocturna y orina de 24 horas. Se expresa el número absoluto y el porcentaje (%) respecto al total de niños de cada grupo.

(A) Niños sanos (N=87)

		24 horas	
		Ox/Cr alterado	Ox/Cr no alterado
12 horas nocturna	Ox/Cr alterado	1 (2%)	0 (0%)
	Ox/Cr no alterado	0 (0%)	86 (98%)

(B) Niños litiásicos (N=26)

		24 horas	
		Ox/Cr alterado	Ox/Cr no alterado
12 horas nocturna	Ox/Cr alterado	8 (30%)	2 (8%)
	Ox/Cr no alterado	0 (0%)	16 (62%)

Ox/Cr: cociente oxalato/creatinina.

Siguiendo la comparación de ambas muestras, en relación a la detección del cociente Ox/Cr, el análisis revela que todos los niños con cociente Ox/Cr alterado en la muestra de orina de 24 horas muestran dicha alteración en la orina de 12 horas nocturna.

Tabla 25. Número de niños con los cocientes Ur/Cr alterados en (A) niños sanos y (B) niños litiásicos en las muestras de orina de 12 horas nocturna y orina de 24 horas. Se expresa el número absoluto y el porcentaje (%) respecto al total de niños de cada grupo.

(A) Niños sanos (N=87)

		24 horas	
		Ur/Cr alterado	Ur/Cr no alterado
12 horas nocturna	Ur/Cr alterado	0 (0%)	0 (0%)
	Ur/Cr no alterado	2 (2%)	85 (98%)

(B) Niños litiásicos (N=26)

		24 horas	
		Ur/Cr alterado	Ur/Cr no alterado
12 horas nocturna	Ur/Cr alterado	1 (4%)	0 (0%)
	Ur/Cr no alterado	1 (4%)	24 (92%)

Cociente úrico/creatinina.

En relación al cociente Ur/Cr, los resultados muestran tres niños (dos del grupo de sanos y un niño del grupo de litiásicos) con alteración del índice Ur/Cr en la orina de 24 horas que no muestran dicha alteración en la orina de 12 horas nocturna

5.3.6. Concordancia de diagnósticos en población adulta

Se analiza la concordancia de diagnósticos de las diferentes alteraciones metabólicas entre las muestras de orina de 12 horas nocturna y las de 24 horas, utilizando los puntos de corte de la

normalidad de los índices urinarios para estos parámetros en población infantil (debido a que en adultos no disponemos de valores de referencia). Los resultados se muestran a continuación (tablas 26-28).

Tabla 26. Número de adultos con los cocientes $Ca/Cr \geq 0,20$ mg/mg y $< 0,20$ mg/mg en (A) adultos sanos y (B) adultos litiásicos, en las muestras de orina de 12 horas nocturna y orina de 24 horas. Se expresa el número absoluto y el porcentaje (%) respecto al total de adultos de cada grupo.

(A) Adultos sanos (N=82)

		24 horas	
		Ca/Cr alterado	Ca/Cr no alterado
12 horas nocturna	Ca/Cr alterado	13 (16%)	3 (4%)
	Ca/Cr no alterado	2 (3%)	64 (77%)

(B) Adultos litiásicos (N=67)

		24 horas	
		Ca/Cr alterado	Ca/Cr no alterado
12 horas nocturna	Ca/Cr alterado	17 (26 %)	4 (6%)
	Ca/Cr no alterado	5 (7%)	41 (61%)

Ca/Cr: cociente calcio/creatinina.

El análisis de la población adulta revela que dos sujetos sanos y cinco sujetos litiásicos con resultados alterados del cociente calcio/creatinina en la muestra de orina de 24 horas no presentan dicha alteración en el análisis exclusivo del período nocturno. Se observan cuatro adultos litiásicos que únicamente presentan alteración del cociente Ca/Cr en la muestra de orina de 12 horas nocturna, siendo el valor del cociente $< 0,20$ en la orina de 24 horas.

Tabla 27. Número de adultos con los cocientes Cit/Cr alterados en (A) adultos sanos y (B) adultos litiasicos en las muestras de orina de 12 horas nocturna y orina de 24 horas. Se expresa el número absoluto y el porcentaje (%) respecto al total de adultos de cada grupo.

(A) Adultos sanos (N=82)

		24 horas	
		Cit/Cr alterado	Cit/Cr no alterado
12 horas nocturna	Cit/Cr alterado	8 (10%)	8 (10%)
	Cit/Cr no alterado	0 (%)	66 (80%)

(B) Adultos litiasicos (N=67)

		24 horas	
		Cit/Cr alterado	Cit/Cr no alterado
12 horas nocturna	Cit/Cr alterado	10 (15%)	4 (6%)
	Cit/Cr no alterado	0 (%)	53 (79%)

Cit/Cr: cociente citrato/creatinina.

En relación al cociente Cit/Cr, los resultados muestran que todos los pacientes con alteración del índice Cit/Cr en la orina de 24 horas muestran dicha alteración en el análisis de la muestra de 12 horas nocturna.

Tabla 28. Número de adultos con los cocientes Ca/Cit mg/mg $\geq 0,33$ y $< 0,33$ (A) niños sanos y (B) niños litíasicos en las muestras de orina de 12 horas nocturna y orina de 24 horas. Se expresa el número absoluto y el porcentaje (%) respecto al total de adultos de cada grupo.

(A) Adultos sanos (N=82)

		24 horas	
		Ca/Cit alterado	Ca/Cit no alterado
12 horas nocturna	Ca/Cit alterado	22 (27%)	5 (6%)
	Ca/Cit no alterado	1 (1%)	54 (66%)

(B) Adultos litíasicos (N=67)

		24 horas	
		Ca/Cit alterado	Ca/Cit no alterado
12 horas nocturna	Ca/Cit alterado	38 (57%)	4 (6%)
	Ca/Cit no alterado	0 (0%)	25 (37%)

Ca/Cit: cociente calcio/citrato.

Los resultados de la detección de la alteración del cociente Ca/Cit en adultos muestran un único sujeto (en el grupo de los sanos) con alteración del índice en la orina de 24 horas que no presenta dicha alteración en la muestra de 12 horas nocturna.

5.4. Resultados de los parámetros urinarios en las muestras de orina de 12 horas diurna, 12 horas nocturna y 24 horas en niños sanos y adultos sanos

5.4.1. Volumen urinario

Los resultados del volumen urinario y la diuresis respectivamente en niños sanos y adultos sanos (tabla 29). Se expresan los resultados en tablas de percentiles.

Tabla 29. Volumen urinario obtenido en los cuatro grupos de población.

	Volumen orina (ml)								
	2,5	5	10	25	50	75	90	95	97,5
Niños sanos									
12 h D	229	235	272	377	480	708	980	1021	1382
12 h N	190	213	240	300	360	450	640	710	910
24 h	461	495	526	672	876	1180	1538	1830	2134
Adultos sanos									
12 h D	350	370	420	600	850	1160	1510	1780	1854
12 h N	270	290	327	490	650	1000	1254	1590	1636
24 h	627	690	856	1194	1545	2150	2560	2910	3081

12h D: orina 12 horas diurna, 12h N: orina 12 horas nocturna, 24 h: orina 24 horas.

5.4.2. Eliminación urinaria de solutos

Los valores urinarios de las sustancias promotoras de la cristalización urinaria (calcio, oxalato, fósforo y ácido úrico) y de las inhibidoras (citrato y magnesio) se presentan por separado para cada uno de los grupos (adultos sanos, adultos litíasicos, niños sanos y niños litíasicos) en las muestras de orina de 12 horas diurna, de 12 horas nocturna y de 24 horas, mediante tablas de percentiles. En todos los casos se ha seguido el mismo orden de presentación, estudiando los valores de los índices urinarios y las excreciones urinarias (ver sección metodología).

5.4.2.1. Niños

Los resultados de la eliminación de solutos en niños sanos se muestran en las tablas 30-39.

Tabla 30. Distribución percentilada de los *índices urinarios* calculados en las muestras de orina de 12 horas diurna de niños sanos.

	Percentiles								
	2,5	5	10	25	50	75	90	95	97,5
Ca/Cr (mg/mg)	0,02	0,02	0,02	0,04	0,07	0,10	0,13	0,16	0,16
P/Cr (mg/mg)	0,32	0,32	0,43	0,56	0,66	0,86	1,02	1,17	1,17
Mg/Cr (mg/mg)	0,05	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09	0,12	0,14	0,14
Ur/Cr (mg/mg)	0,40	0,40	0,44	0,51	0,60	0,71	0,85	1,00	1,00
Cit/Cr (mg/g)	271	271	335	452	649	824	1007	1087	1087
Ox/Cr (mmol/mol)	14,9	14,9	16,44	23,30	28,67	36,43	50,08	54,9	54,9
Ca/Cit (mg/mg)	0,03	0,03	0,04	0,07	0,10	0,17	0,23	0,30	0,30

Ca/Cr: calcio/creatinina, P/Cr: fósforo/creatinina, Mg/Cr: magnesio/creatinina, Ur/Cr: úrico/creatinina, Cit/Cr: citrato/creatinina, Ox/Cr: oxalato/creatinina, Ca/Cit: calcio/citrato.

Tabla 31. Distribución percentilada de los *índices urinarios* calculados en las muestras de orina de 12 horas nocturna de niños sanos.

	Percentiles								
	2,5	5	10	25	50	75	90	95	97,5
Ca/Cr (mg/mg)	0,01	0,01	0,02	0,05	0,08	0,13	0,19	0,21	0,21
P/Cr (mg/mg)	0,55	0,55	0,62	0,75	0,90	1,08	1,27	1,31	1,31
Mg/Cr (mg/mg)	0,05	0,05	0,07	0,09	0,13	0,16	0,18	0,21	0,21
Ur/Cr (mg/mg)	0,26	0,26	0,28	0,36	0,43	0,50	0,70	0,79	0,79
Cit/Cr (mg/g)	178	178	206	278	410	594	712	793	793
Ox/Cr (mmol/mol)	14,7	14,7	16,9	23,6	29,8	35,9	43,9	51,9	52,0
Ca/Cit (mg/mg)	0,04	0,04	0,05	0,10	0,20	0,35	0,53	0,63	0,63

Ca/Cr: calcio/creatinina, P/Cr: fósforo/creatinina, Mg/Cr: magnesio/creatinina, Ur/Cr: úrico/creatinina, Cit/Cr: citrato/creatinina, Ox/Cr: oxalato/creatinina, Ca/Cit: calcio/citrato.

Tabla 32. Distribución percentilada de los **índices urinarios** calculados en las muestras de orina de **24 horas** de niños sanos.

	Percentiles								
	2,5	5	10	25	50	75	90	95	97,5
Ca/Cr (mg/mg)	0,02	0,02	0,03	0,05	0,07	0,10	0,15	0,18	0,18
P/Cr (mg/mg)	0,55	0,55	0,62	0,75	0,90	1,08	1,27	1,31	1,31
Mg/Cr (mg/mg)	0,06	0,06	0,07	0,08	0,10	0,12	0,15	0,16	0,16
Ur/Cr (mg/mg)	0,34	0,34	0,38	0,46	0,51	0,63	0,81	0,85	0,85
Cit/Cr (mg/g)	249	249	287	367	541	723	816	949	949
Ox/Cr (mmol/mol)	15,2	15,2	18,6	23,1	29,5	37,2	46,2	50,4	50,4
Ca/Cit (mg/mg)	0,04	0,04	0,06	0,09	0,15	0,23	0,31	0,41	0,41

Ca/Cr: calcio/creatinina, P/Cr: fósforo/creatinina, Mg/Cr: magnesio/creatinina, Ur/Cr: úrico/creatinina, Cit/Cr: citrato/creatinina, Ox/Cr: oxalato/creatinina, Ca/Cit: calcio/citrato.

Tabla 33. Distribución percentilada de la **excreción de solutos** en las muestras de orina de **12 horas diurna** en niños sanos.

	Percentiles								
	2,5	5	10	25	50	75	90	95	97,5
Ca mg/kg	0,16	0,19	0,2	0,4	0,7	1,1	1,5	1,6	1,7
Mg mg/kg	0,5	0,5	0,6	0,7	0,9	1,1	1,6	1,9	1,9
Cit mg/kg	3,2	3,3	4,15	4,75	7,04	8,90	10,5	11,6	11,7
P mg/kg	2,8	2,8	3,7	5,6	7,3	9,2	11,3	15,1	15,8
Ur mg/1,73m²	208	218	260	311	361	422	502	625	625
Ox mg/1,73m²	6,9	7,2	8,4	11,3	13,2	17,1	19,1	20,4	21,9

Ca: calcio, Mg: magnesio, Cit: citrato, P: fósforo, Ur: ácido úrico, Ox: oxalato, Cr: creatinina.

Tabla 34. Distribución percentilada de la **excreción de solutos** en las muestras de orina de **12 horas nocturna** en niños sanos.

	Percentiles								
	2,5	5	10	25	50	75	90	95	97,5
Ca mg/kg	0,14	0,16	0,19	0,46	0,81	1,30	1,93	2,20	2,20
Mg mg/kg	0,5	0,6	0,7	0,9	1,3	1,6	1,9	2,0	2,1
P mg/kg	5,0	5,2	5,6	7,2	9,4	10,8	12,2	13,2	14,2
Cit mg/kg	1,4	1,6	2,15	2,73	4,20	5,3	6,7	8,1	8,12
Ur mg/1,73m ²	141	142	160	193	242	30	371	424	432
Ox mg/1,73m ²	6,8	7,2	8,3	9,4	12,1	15,5	18,3	20,5	20,6

Ca: calcio, Mg: magnesio, Cit: citrato, P: fósforo, Ur: ácido úrico, Ox: oxalato.

Tabla 35. Distribución percentilada de la **excreción de solutos en 24 horas** calculada a partir de las muestras de orina de 12 horas en niños sanos.

	Percentiles								
	2,5	5	10	25	50	75	90	95	97,5
Ca mg/kg	0,35	0,43	0,60	1,02	1,57	2,51	3,07	3,47	3,47
Mg mg/kg	1,2	1,3	1,4	1,7	2,2	2,7	3,2	3,7	3,7
Cit mg/kg	5,4	5,5	6,6	7,9	11,1	14,0	16,5	20,7	20,7
P mg/kg	8,7	8,9	10,5	13,9	16,7	19,9	23,2	24,8	25,9
Ur mg/1,73m ²	368	371	446	533	598	698	836	952	951
Ox mg/1,73m ²	15,1	17,1	18,6	21,6	25,9	29,9	36,5	40,4	42,5

Ca: calcio, Mg: magnesio, Cit: citrato, P: fósforo, Ur: ácido úrico, Ox: oxalato, Cr: creatinina.

5.4.2.2. Adultos

Resultados de la eliminación de solutos en adultos sanos (tablas 36-41).

Tabla 36. Distribución percentilada de los *índices urinarios* calculados en las muestras de orina de 12 horas diurna de adultos sanos.

	Percentiles								
	2,5	5	10	25	50	75	90	95	97,5
Ca/Cr (mg/mg)	0,03	0,03	0,05	0,08	0,12	0,16	0,23	0,27	0,27
P/Cr (mg/mg)	0,30	0,30	0,34	0,47	0,54	0,63	0,74	0,85	0,85
Mg/Cr (mg/mg)	0,03	0,03	0,03	0,04	0,06	0,08	0,10	0,11	0,11
Ur/Cr (mg/mg)	0,32	0,32	0,33	0,40	0,45	0,53	0,61	0,67	0,67
Cit/Cr (mg/g)	258	258	305	417	565	779	1032	1100	1100
Ox/Cr (mmol/mol)	10,0	10,0	11,8	14,9	22,4	31,6	40,1	47,8	47,9
Ca/Cit (mg/mg)	0,06	0,06	0,09	0,14	0,20	0,30	0,46	0,58	0,58

Ca/Cr: calcio/creatinina, P/Cr: fósforo/creatinina, Mg/Cr: magnesio/creatinina, Ur/Cr: úrico/creatinina, Cit/Cr: citrato/creatinina, Ox/Cr: oxalato/creatinina, Ca/Cit: calcio/citrato.

Tabla 37. Distribución percentilada de los *índices urinarios* calculados en las muestras de orina de 12 horas nocturna de adultos sanos.

	Percentiles								
	2,5	5	10	25	50	75	90	95	97,5
Ca/Cr (mg/mg)	0,03	0,03	0,045	0,07	0,11	0,17	0,25	0,30	0,30
P/Cr (mg/mg)	0,41	0,41	0,46	0,57	0,68	0,79	0,94	1,01	1,01
Mg/Cr (mg/mg)	0,03	0,03	0,04	0,05	0,07	0,09	0,13	0,14	0,14
Ur/Cr (mg/mg)	0,21	0,21	0,24	0,29	0,35	0,43	0,51	0,55	0,55
Cit/Cr (mg/g)	149	149	186	280	408	582	733	897	897
Ox/Cr (mmol/mol)	5,9	5,9	7,9	13,5	20,9	31,8	39,5	55,4	55,4
Ca/Cit (mg/mg)	0,09	0,09	0,125	0,18	0,24	0,41	0,71	0,93	0,93

Ca/Cr: calcio/creatinina, P/Cr: fósforo/creatinina, Mg/Cr: magnesio/creatinina, Ur/Cr: úrico/creatinina, Cit/Cr: citrato/creatinina, Ox/Cr: oxalato/creatinina, Ca/Cit: calcio/citrato.

Tabla 38. Distribución percentilada de los **índices urinarios** calculados en las muestras de orina de **24 horas** de adultos sanos.

	Percentiles								
	2,5	5	10	25	50	75	90	95	97,5
Ca/Cr (mg/mg)	0,05	0,05	0,05	0,08	0,11	0,17	0,24	0,25	0,25
P/Cr (mg/mg)	0,38	0,38	0,42	0,52	0,61	0,72	0,78	0,89	0,89
Mg/Cr (mg/mg)	0,04	0,04	0,04	0,05	0,07	0,09	0,11	0,12	0,12
Ur/Cr (mg/mg)	0,26	0,26	0,31	0,34	0,41	0,47	0,55	0,59	0,59
Cit/Cr (mg/g)	216	216	252	356	504	703	885	958	958
Ox/Cr (mmol/mol)	9,3	9,3	10,7	14,8	24,3	30,7	35,9	50,3	50,3
Ca/Cit (mg/mg)	0,08	0,08	0,11	0,16	0,23	0,35	0,55	0,67	0,67

Ca/Cr: calcio/creatinina, P/Cr: fósforo/creatinina, Mg/Cr: magnesio/creatinina, Ur/Cr: úrico/creatinina, Cit/Cr: citrato/creatinina, Ox/Cr: oxalato/creatinina, Ca/Cit: calcio/citrato.

Tabla 39. Distribución percentilada de la **excreción de solutos** en las muestras de orina de **12 horas diurna** en adultos sanos.

	Percentiles								
	2,5	5	10	25	50	75	90	95	97,5
Ca mg/12h	25	30	36	63	91	125	162	175	268
Mg mg/12h	18	23	26	38	48	58	65	68	93
Cit mg/12h	150	184	254	310	405	509	667	750	871
P mg/12h	150	207	233	320	416	504	573	624	661
Ur mg/12 h	185	193	222	264	330	418	496	548	670
Ox mg/12h	4	5	7	9	13	16	19	26	31

Ca: calcio, Mg: magnesio, Cit: citrato, P: fósforo, Ur: ácido úrico, Ox: oxalato, Cr: creatinina.

Tabla 40. Distribución percentilada de la **excreción de solutos** en las muestras de orina de **12 horas nocturna** en adultos sanos.

	Percentiles								
	2,5	5	10	25	50	75	90	95	97,5
Ca mg/12h	14,3	17,1	34,2	47,5	78,0	112,8	163,0	188,4	193,8
Mg mg/12h	21,4	23,7	28,0	38,3	48,7	63,9	77,1	84,1	104,2
Cit mg/12h	98,8	131,6	153,2	201,7	282,9	365,5	475,7	524,6	589,04
P mg/12h	146	228	270	362	471	577	681	725	798
Ur mg/12 h	108	128	159	179	235	291	356	412	553
Ox mg/12h	2	3	5	7	11	16	21	27	31

Ca: calcio, Mg: magnesio, Cit: citrato, P: fósforo, Ur: ácido úrico, Ox: oxalato, Cr: creatinina.

Tabla 41. Distribución percentilada de la **excreción de solutos en 24 horas** en adultos sanos.

	Percentiles								
	2,5	5	10	25	50	75	90	95	97,5
Ca mg/24h	40,2	57,8	84,2	114,5	172,2	252,8	310,3	331,6	348,3
Mg mg/24h	46,8	54,7	61,4	82,3	98,5	119,4	136,7	148,4	155,0
Cit mg/24h	305	341	391	541	712	884	1125	1284	1355
P mg/24h	340	444	560	691	879	1030	1233	1300	1372
Ur mg/24 h	320	350	382	478	570	681	847	919	1007
Ox mg/24h	7	10	14	19	24	31	40	51	54

Ca: calcio, Mg: magnesio, Cit: citrato, P: fósforo, Ur: ácido úrico, Ox: oxalato, Cr: creatinina.

DISCUSIÓN

6. DISCUSIÓN

6.1. Selección de la población, tipos de muestra y variables analizadas

6.1.1. Características de la población del estudio

El presente estudio se ha realizado en una muestra compuesta por 253 individuos, divididos en cuatro grupos: adultos sanos (n=82), adultos litíasicos (n=67), niños sanos (n=87) y niños litíasicos y prelitíasicos (n=26). En este estudio no se pretende buscar una muestra representativa de la población, ya que el objetivo principal es detectar las diferencias entre dos muestras de orina de un mismo individuo.

Todos los individuos del estudio, sanos y patológicos, fueron reclutados por el mismo equipo de investigadores. Además, los sujetos sanos no fueron reclutados en el entorno hospitalario, todo ello con objeto de minimizar los errores derivados de los sesgos de selección y los factores de confusión.

La elección de la franja de edad de los grupos del estudio (en niños de 5 a 14 años y entre 25 y 65 años en adultos) estuvo condicionada por varios factores. En la población pediátrica del estudio, porque la franja de edad entre 5 y 14 años corresponde a un ciclo educativo completo, el ciclo de primaria, hecho que facilita las tareas organizativas. Por otro lado, a estas edades los niños ya tienen capacidad para entender y colaborar fácilmente en la recogida de las muestras, aumentando la fiabilidad de los datos. Asimismo, se corresponde con un período en el que la mayoría de niños han adquirido el control de esfínteres y es un período de estabilización de los hábitos alimentarios y estilo de vida. Entre los 6 y 8 años se ha completado la maduración de los mecanismos de excreción urinaria de prácticamente todos los solutos, observándose una disminución en la variabilidad intraindividual e interindividual a partir de esta edad y hasta la adolescencia (65,102).

En la población adulta se escogió la franja de edad a partir de los 25 años, porque a esa edad ya se ha alcanzado la madurez ósea. Por otro lado, hemos situado el límite superior en los 65 años por el aumento del porcentaje de comorbilidades asociadas que a partir de esa edad.

En relación a la población litíásica analizada, se incluyó una muestra heterogénea de pacientes con antecedentes de litiasis tanto única como múltiple. Se decidió no subclasificar a los

pacientes en la mayoría de los apartados. En primer lugar, porque se reduciría demasiado el tamaño de la muestra y también porque consideramos que el hacerlo no modificaría la interpretación de los resultados, ya que el estudio pretende analizar fundamentalmente la variabilidad día-noche de un mismo sujeto. En referencia a la población pediátrica, cabe destacar que existe una gran diferencia en cuanto al tamaño de la muestra entre el grupo de niños litiásicos y de niños sanos, debido a la baja incidencia de litiasis renal en edad pediátrica. Por ello, se decidió incluir en el estudio a niños con litiasis no analizada y a niños con diagnóstico de prelitiasis.

Por otra parte, se excluyeron del estudio los sujetos con enfermedades crónicas susceptibles de alterar el metabolismo mineral o sujetos en tratamiento con fármacos que no fuera posible suspender para la participación en el estudio. El motivo de ello fue que el principal objetivo del estudio es describir las diferencias en la excreción de solutos entre dos períodos diferentes del día y estudiar así su ritmo de excreción circadiana y la mayoría de tratamientos que se utilizan en los pacientes litiásicos (como diuréticos, citrato...) pueden interferir en estos resultados. Del mismo modo, otros tratamientos también pueden afectar a la excreción de dichos solutos, tanto por su mecanismo de acción (corticoesteroides, vitamina D) como por su posología, con frecuencia simplificada a la toma de una dosis diaria. En relación a los sujetos litiásicos que recibían tratamiento, se decidió discontinuarlo los cuatro días anteriores a la recogida de las muestras. Teniendo en consideración que la vida media de los principales tratamientos para la litiasis (los diuréticos y el citrato) oscila entre las 8-16 horas, se consideró que es un período adecuado que asegura la eliminación completa del fármaco en orina. La única medida terapéutica que se mantuvo en los sujetos con litiasis fue la recomendación de ingerir abundante líquido, por el riesgo importante que supone su restricción en esta población. Este hecho se ha tenido en cuenta a la hora de interpretar los resultados.

En relación a la distribución de los tipos de cálculos renales analizados en nuestra serie de pacientes litiásicos, los más frecuentes son los de oxalato cálcico monohidrato (COM) y los de oxalato cálcico dihidrato (COD). Los primeros (tanto los de COMp como los de COMc) los encontramos únicamente en población adulta. En niños, los más frecuentes son los de COD y en menor medida los de COD+HAP. Esta proporción de cálculos hallada en nuestro estudio coincide con los descritos en la literatura (15).

Destaca el reducido número hallado de cálculos de HAP y la ausencia de litiasis de fosfato amónico magnésico (FAM) y brushita. Es conocido que estos tipos de cálculos se producen en

edad infantil, especialmente en los niños pequeños. La tesis de Lumbreras Fernández, que analiza los datos del Registro Nacional de Litiasis Renal, constata que los cálculos de FAM y HAP son los más frecuentes en los niños menores de 6 años (103). Eso explica que en nuestro estudio no tengamos este tipo de cálculos en la muestra de niños litiásicos, ya que se analiza la población escolar a partir de los 5 años.

En referencia a los cálculos de ácido úrico solo hallamos un único cálculo en el grupo de adultos. Esto puede explicarse por el hecho de que este tipo de litiasis es más frecuente en población adulta respecto a la infantil y especialmente se observa en relación con el síndrome metabólico (que hemos excluido del estudio).

6.1.2. Tipos de muestra y variables analizadas

La recogida de orina se realizó en una muestra de orina de 24 horas fraccionada en dos períodos consecutivos de 12 horas. El reparto de estos horarios se realizó de modo que abarcaran el mismo número de horas cada uno, pero de dos períodos de características diferentes. De este modo, en la muestra de orina de 12 horas diurna podemos estudiar la orina generada a lo largo de todo el día, incluyendo además la influencia sobre la misma del desayuno, la comida y algunas ingestas que se realizan a media mañana o a media tarde, así como los efectos derivados de la actividad propia de este período. Por otro lado, la orina recogida entre las 20 horas y las 8 horas del día siguiente (que recoge la primera orina de la mañana) refleja la influencia del período nocturno, con el descenso de la actividad física y del número de ingestas (sólo se recoge la cena) propias de este momento del día.

Para la evaluación de los resultados es muy importante que las muestras hayan sido recogidas en un mismo día y que no se hayan hecho por separado los análisis de las fracciones de 12 horas y la orina de 24 horas en días diferentes. De hecho, los valores que presentamos para 24 horas proceden de la suma de los dos períodos de 12 horas. Esto elimina el sesgo derivado de la variabilidad intraindividual de las muestras de orina recogidas en días diferentes, que es bien conocida que, aunque suele ser inferior al 20%, para algunos parámetros bioquímicos como el calcio, puede situarse en valores superiores al 30% (104).

Una vez recogidas las muestras, fue preciso aplicar un criterio para garantizar en la medida de lo posible la selección de las orinas bien recogidas, ya que la literatura describe errores de recogida

hasta en un 50% de los pacientes (89,90). Para ello, a la entrega de la muestra se realizó de nuevo una anamnesis al sujeto o familiar, comprobando que la recogida es correcta. Asimismo, se calculó la creatininuria de 24 horas en relación al peso, ya que es un parámetro relativamente constante, con unos márgenes definidos para la edad y sexo de los sujetos y por ello se utiliza generalmente para evaluar si la muestra ha sido bien recogida. Se utilizaron los valores de creatininuria publicados en las principales guías, tanto en población pediátrica como en los adultos (ver sección metodología) (82,100).

A continuación, creímos conveniente establecer un segundo filtro, ya que puede suceder que el valor total de la creatininuria en 24 horas sea correcto pero que la distribución de los períodos de 12 horas sea incorrecta y que uno de los dos períodos se haya alargado más en el tiempo a expensas del acortamiento del otro. El criterio que utilizamos para eliminar las muestras en las que se puede haber producido este error fue similar al empleado a la hora de evaluar la variabilidad intraindividual de los valores de creatininuria en orina de 24 horas de días diferentes. Basándonos en el trabajo de McGuire, que define como aceptable una variabilidad en los valores de creatininuria inferior al 30% entre dos muestras de 24 horas (99) decidimos aceptar este límite para la variabilidad también entre los dos periodos del día. Aplicando estos criterios, nos vimos obligados a descartar del estudio a 12 individuos. Finalmente, todas las muestras de orina incluidas en el estudio fueron procesadas y analizadas con los mismos materiales y en el mismo laboratorio.

Las muestras de orina minutada diurna y nocturna se procesaron por separado. En cada una de ellas se analizó el pH, el volumen urinario y la cantidad de solutos relacionados con la cristalización urinaria (oxalato, calcio, fósforo y úrico como promotores y citrato y magnesio como inhibidores). No disponemos de valor de pH en la muestra de orina de 24 horas, ya que para este parámetro en concreto no es correcto asumir el valor de 24 horas como el promedio de los valores de las muestras por separado. El resto de resultados de los parámetros del periodo de 24 horas se obtuvieron sumando los valores obtenidos en el análisis de ambas fracciones de 12 horas.

6.2. Comparación de los resultados de los parámetros implicados en la cristalización urinaria entre las muestras de 12 horas diurna y 12 horas nocturna

Este estudio descriptivo ha sido diseñado para comparar las bioquímicas urinarias en dos períodos consecutivos de 12 horas, en sujetos sanos y en pacientes con litiasis renal. En él se pretende profundizar en las diferencias en la excreción de sustancias promotoras e inhibidoras de la cristalización entre ambos períodos, que puedan explicar la formación de los cálculos. El hallazgo fundamental del estudio es que existen diferencias en el volumen, el pH y la excreción de la mayoría de solutos entre la orina del período diurno y la del período nocturno en todos los grupos de población estudiados.

Al incluir dos categorías de sujetos bien definidas, como son sujetos sanos y sujetos litiásicos, lo primero que observamos es que entre ellos existen diferencias importantes en la cantidad total del soluto excretada en la orina, independientemente del período del día en que se haya recogido la muestra. Nuestros resultados muestran una mayor eliminación urinaria de promotores de la cristalización (calcio, fósforo, oxalato y ácido úrico) y una menor eliminación de sustancias inhibidoras de la misma (citrato y magnesio) en los sujetos litiásicos respecto a los sujetos sanos. Como se ha detallado en la introducción, estos hallazgos coinciden con los descritos en la literatura en pacientes con litiasis renal, que justifican la realización del estudio metabólico urinario en los mismos (65,105).

En cuanto a las diferencias de la cantidad neta de soluto entre los grupos de niños y adultos litiásicos, coincidiendo con lo esperado, en líneas generales observamos que la población infantil con litiasis presenta mayor eliminación de los promotores (calcio, fósforo, oxalato y úrico) y menor de los inhibidores (magnesio y citrato) respecto a los adultos con la misma patología. Esto es así porque la litiasis renal en el niño, a diferencia del adulto, suele asociar con mayor frecuencia la presencia de alteraciones metabólicas importantes, ya que las condiciones urodinámicas del niño suelen ser más favorables, por lo que a esta edad se suele precisar de mayores grados de sobresaturación urinaria para que se formen cálculos. En adultos, lo más frecuente es encontrar trastornos urodinámicos que favorezcan el estasis urinario y que aumenten el riesgo de cristalización derivado de las alteraciones de la composición de la orina, aunque éstas no sean muy intensas (106). Asimismo, esta diferencia entre niños y adultos puede

haberse visto más acentuada además por haber excluido del estudio a los pacientes con malformaciones congénitas graves en las vías urinarias.

El diseño de nuestro estudio pretende examinar si, además de las diferencias en las magnitudes de dichas sustancias, existe alguna alteración en la variabilidad de la composición de la orina a lo largo del día que pudiera ser sospechoso de estar implicado en la formación de los cálculos. Es bien conocido que, en algunas enfermedades como la hipertensión arterial, la falta de descenso del 10% de la presión arterial (sistólica, diastólica o ambas) del período nocturno respecto al diurno, denominado ‘dipper nocturno’, está implicado en su fisiopatología y resulta un importante factor pronóstico (107–109). De modo análogo, nuestro trabajo pretende observar si existe un patrón definido de diferencias día-noche en la bioquímica urinaria y si este patrón es de alguna manera diferente en sujetos con litiasis respecto a los sanos del mismo grupo de edad. De tal modo, a lo largo de este primer apartado del estudio, cuando hablamos de que “existen o no existen diferencias” en el patrón hallado entre sanos y litiásicos, no hace referencia a que la cantidad total de soluto excretada en cada período sea igual en los dos grupos, sino a que una determinada sustancia se excreta en mayor o menor cantidad en uno de los dos períodos analizados, comparado con el otro. Y que esta variación es uniforme en los dos grupos de individuos.

En referencia a este objetivo principal del estudio, hemos expresado los resultados presentando en primer lugar el valor promedio de cada parámetro en el conjunto de las muestras de orina diurna y nocturna, en cada uno de los cuatro grupos de población analizados por separado. Complementariamente, hemos realizado la evaluación de las diferencias para cada individuo en concreto y éstas se muestran gráficamente en los gráficos de Bland-Altman, también realizados por separado para cada grupo.

El estudio revela que existen solutos en los que la eliminación urinaria aumenta claramente en el período nocturno, como es el caso del fósforo y, en cierta medida, el magnesio. Por el contrario, la diuresis, el pH urinario y otros solutos como el ácido úrico y el citrato, presentan un descenso acusado por la noche. En el caso del oxalato y del calcio no existe un patrón uniforme, mostrando individuos que excretan mayor cantidad de soluto por la noche y otros durante el período diurno. Es importante señalar que en el caso concreto de los niños litiásicos, a pesar de que en líneas generales los resultados son similares a los de los otros grupos, no se ha alcanzado la significación estadística para algunos parámetros, posiblemente por el reducido tamaño de la muestra.

Además, cabe destacar que en los solutos que presentan un patrón claro de variabilidad circadiana (como el citrato, el fósforo y el úrico) éste se observa de manera similar en el grupo de sanos y en el de litíasicos. Del mismo modo, la inexistencia del patrón definido (que observamos en el oxalato y el calcio) se cumple también en ambos grupos. Por tanto, los hallazgos de nuestro estudio no parecen indicar que la falta de un ritmo circadiano en la eliminación de solutos implicados en la litiasis renal tenga un papel en la fisiopatología de la enfermedad en la mayoría de individuos.

Para explicar las diferencias que hemos encontrado en la composición de la orina a lo largo del día, se debe considerar la influencia de los ritmos circadianos endógenos del organismo y de los factores ambientales como la dieta o el ejercicio físico, siendo los últimos especialmente relevantes durante el período diurno. Como se ha explicado en la introducción, la ingesta de determinados nutrientes influye en la bioquímica urinaria postprandial y ciertos hábitos nutricionales mantenidos en el tiempo pueden condicionar la litogénesis (110). En nuestro estudio, partimos del hecho de que la orina recogida durante el periodo diurno está más influenciada por la dieta, porque incluye un mayor número de ingestas (desayuno, comida y merienda) que la orina de 12 horas nocturna, que sólo incluye la cena. De este modo, si la presencia de una determinada sustancia en orina estuviera mayormente condicionada por el aporte de la dieta, cabría esperar que su excreción urinaria fuera mayor en la orina diurna. Sin embargo, nuestros resultados únicamente muestran una excreción mayor de citrato y ácido úrico durante el día mientras que por el contrario, los niveles de magnesio, fósforo, y en muchos casos de calcio, son menores en este período. Este hecho nos lleva a pensar que la influencia de otros factores, tales como los factores endógenos, juega un papel importante en la variabilidad de la excreción de los solutos.

La literatura describe cómo los ritmos circadianos no solo causan la fluctuación en del filtrado glomerular, con descenso del volumen urinario nocturno, sino que también influyen en los mecanismos que regulan la eliminación urinaria de solutos (51-53). En el abordaje de esta cuestión, existen publicaciones que describen la oscilación de la bioquímica urinaria a lo largo del día, pero no existe ningún estudio con un diseño similar al nuestro, que analice las diferencias en una muestra de 24 horas fraccionada en dos períodos iguales de 12 horas.

El estudio pormenorizado de las diferencias observadas en los resultados de cada parámetro en los diferentes períodos del día nos permite entrever qué factores pueden estar más relacionados con las mismas y cuáles pueden ser sus posibles implicaciones en el riesgo de formar cálculos en cada período.

6.2.1. Volumen urinario

Los datos de la literatura ponen cada vez más de relieve la importancia del volumen urinario en la fisiopatología de la litiasis, siendo el factor de riesgo hallado con más frecuencia (50-75% de los casos) en prácticamente todos los estudios (7,74,111). Una ingesta escasa de líquido o el aumento de la pérdida hídrica es un factor de riesgo para todos los tipos de litiasis porque da lugar un volumen urinario inferior y por consiguiente, a una orina con mayor concentración de solutos promotores de la cristalización y con un tránsito enlentecido a lo largo del tracto urinario (76,112,113).

Nuestro estudio revela que el volumen urinario disminuye en la muestra de orina de 12 horas nocturna en los cuatro grupos analizados. Este esperado descenso del volumen urinario nocturno no se produce de forma tan clara en los pacientes con litiasis, tanto en adultos como en niños. De hecho, en este último grupo los valores son prácticamente iguales en los dos períodos.

El mantenimiento de un volumen urinario adecuado puede resultar protector de la formación de los tipos más frecuentes de cálculos renales y por ello constituye un pilar fundamental en el tratamiento de la litiasis renal (27,74,114). Cabe comentar que, por motivos éticos, en el diseño del estudio no se modificaron las pautas de consumo de líquidos en estos pacientes, que inciden especialmente en aumentar el aporte hídrico al final del día. Además, estas recomendaciones posiblemente están ya establecidas en los hábitos dietéticos de la mayoría de pacientes litiásicos. Ambos aspectos pueden explicar la menor magnitud de diferencia respecto al volumen urinario diurno y nocturno en la población de sujetos litiásicos, tanto niños como adultos.

El hallazgo del descenso del volumen urinario durante el período nocturno coincide con lo publicado por otros autores y se explica por la menor ingesta hídrica durante este período y por el pico de secreción de ADH que tiene lugar durante la madrugada, que produce un descenso fisiológico de la diuresis durante la noche (51-55).

Este descenso nocturno de la diuresis tiene una repercusión importante en el riesgo de cristalización. Varios estudios muestran que el aumento del riesgo de cristalización urinaria puede estar condicionado únicamente por un volumen urinario bajo, incluso en pacientes con ausencia de alteraciones metabólicas. Destacar en este sentido el estudio de Lande que, al analizar una serie de casos pediátricos con litiasis renal constató que, en muchos de ellos, la sobresaturación en la orina no se debía a la excreción neta de solutos, sino al descenso del

volumen urinario en el que estaban diluidos (113). Del mismo modo, en un estudio previo realizado por nuestro grupo, se halló un grupo considerable de niños sin alteraciones metabólicas, que presentaban riesgo litogénico secundario a una diuresis escasa (115,116). La literatura constata, también en población adulta, que el descenso del volumen urinario condiciona en sí mismo un mayor riesgo de cristalización. Entre estos trabajos destacan los de Ahlstrand, Robert y Tiselius, que se detallan más adelante al hacer referencia al riesgo de cristalización urinaria (81,98,117).

De este modo, los resultados del presente trabajo contribuyen a sustentar la afirmación de que la orina de la noche presenta un riesgo de cristalización incrementado en la mayoría de la población y que este riesgo está en primer lugar condicionado por un aumento en la concentración de la misma y un menor flujo urinario. Por consiguiente, el diseño de las estrategias de prevención de litiasis en la población tiene que ir encaminado de forma prioritaria a asegurar un aporte hídrico adecuado en las horas finales del día.

6.2.2. Niveles de pH urinario

El pH de la orina modifica el grado de solubilidad de los diferentes solutos y de ahí la importancia de su medición en el diagnóstico y manejo terapéutico de la litiasis renal. Está demostrado que el pH urinario afecta a la cristalización tanto de sales úricas como cálcicas y cada vez tiene más relevancia en la fisiopatología de la litiasis úrica en los adultos con síndrome metabólico (46).

Nuestros datos ponen de manifiesto niveles más elevados de pH urinario en la muestra de orina de 12 horas diurna. Debemos recordar que los niveles de pH superiores a 6,2 favorecen la cristalización de fosfatos cálcicos (hidroxiapatita y brushita). Los estudios de riesgo de cristalización mediante la determinación del AP-CaP- que contemplan el pH como un factor clave para este riesgo, demuestran que existe un riesgo de formación de litiasis de fosfato mayor durante el día, como consecuencia del pH más alcalino en este período (48,78). Este exceso de alcalinidad en la orina tiene un papel muy importante en los pacientes con acidosis tubular renal y en las litiasis favorecidas por dietas vegetarianas, en las que se suma una carga importante de fósforo y de oxalato. A este respecto, observamos niveles de pH urinarios anormalmente altos (especialmente en el período diurno, que alcanzó una magnitud de 8) en una adulta sana que, al ser preguntada, refirió consumir habitualmente una dieta vegetariana estricta.

Por el contrario, el descenso de los valores de pH urinario en la orina de 12 horas nocturna tiene especial relevancia en el aumento de riesgo de cristalización de sales úricas, ya que los niveles de pH urinario por debajo de 5,5 favorecen la cristalización de ácido úrico. Cameron publicó el hallazgo de un descenso crítico del pH urinario nocturno en una paciente con litiasis úrica persistente, que no había sido detectada previamente en las mediciones de la orina de 24 horas porque se compensaba con los pH más alcalinos del día (118). La detección de este factor de riesgo crítico durante la noche y la instauración del tratamiento adecuado permitió prevenir las recurrencias. En referencia a este artículo, Boari plantea la importancia de la medición del pH en la orina de la noche para el estudio de la litiasis úrica (119).

Nuestros resultados coinciden con la literatura al constatar también este descenso del pH durante el período nocturno. Parece claro que el ayuno nocturno es uno de los factores determinantes de la acidosis urinaria durante este período. En el caso concreto de la orina de 12 horas nocturna que hemos utilizado en este estudio, el ayuno no es estricto, ya que incluye el efecto de la cena. Por consiguiente, a no ser que esta ingesta presentara un contenido elevado de proteína animal (que como ya comentamos, causa un descenso acusado del pH urinario) pensamos que las diferencias observadas entre el día y la noche serían aún mayores si la muestra nocturna excluyera cualquier influencia dietética.

Al observar nuestros datos en relación a las diferencias día-noche entre los sujetos sanos y litiásicos, vemos que existe descenso del pH nocturno en un porcentaje similar de sujetos de ambos grupos. Esto parece indicar que los mecanismos que producen la mayor acidificación nocturna (56) son comunes a ambos grupos y nos lleva a pensar que en la génesis de la litiasis no parece estar tan implicada la pérdida del patrón de variabilidad circadiana del pH como la magnitud del descenso de sus valores.

Al analizar por separado los resultados de variabilidad del pH en las muestras de sujetos litiásicos, distinguimos diferentes situaciones. Vemos que en aquellas litiasis en las que el ácido úrico juega un papel importante, como son las litiasis puras de ácido úrico o las que tienen este compuesto como nucleante, como en los cálculos del tipo COMc, los individuos tienen valores bajos de pH en las muestras de los dos períodos. Pero este valor se sitúa por debajo del límite crítico de 5,5 con mucha más frecuencia en las muestras de la noche. Por otro lado, existe un pequeño grupo de pacientes litiásicos en los que el descenso nocturno del pH es prácticamente inexistente. Al analizarlos en detalle, observamos que son adultos con cálculos de hidroxapatita, por lo que pensamos que la causa de que no hayamos observado la variabilidad circadiana esperada puede deberse a la existencia de una acidosis tubular subyacente.

En otros casos aislados, al contrario de lo esperado, el pH más bajo lo hemos observado en las muestras del día. Creemos que puede haber sido debido a que estos sujetos hayan ingerido una dieta rica en proteínas durante el día o hayan realizado ejercicio físico intenso.

6.2.3. Excreción de calcio

El calcio es un componente mayoritario de los tipos de cálculos más frecuentes y su elevada concentración en orina conlleva un aumento en el riesgo de cristalizar de la misma.

En el caso de nuestro estudio, los valores de las tablas que muestran el valor promedio de la excreción de calcio en la orina de 12h diurna y de 12h nocturna, no evidencian diferencias en la cantidad de calcio excretada en cada período. Esta ausencia aparente de variabilidad circadiana de este parámetro se produce en los cuatro grupos de población. De este modo, en un principio podría llevar a pensar que la excreción de esta sustancia es constante a lo largo del día. Sin embargo, como ocurre con otros solutos como el oxalato, al observar gráficamente la representación de los resultados para cada individuo en concreto, mediante el gráfico de Bland-Altman (figuras 16C y 18C) se comprueba que la mayoría de sujetos sí presentan diferencias de excreción entre los dos períodos y que, en muchos casos, estas diferencias son muy marcadas. El hecho de que los valores promedio sean iguales está producido porque en aproximadamente el 50% de individuos la cantidad de calcio en orina es sensiblemente mayor en la muestra diurna y en el resto en la muestra nocturna, lo que neutraliza las diferencias en los promedios.

Los hallazgos encontrados en la literatura muestran diferentes patrones de variación del calcio urinario entre el día y la noche, e incluso existen trabajos en los que no se encuentra un patrón claro (120-123). Este hecho puede explicarse por la complejidad e interrelación de los mecanismos que regulan la homeostasis del calcio, siendo el ‘eje intestino-hueso-riñón’ el máximo responsable de estas oscilaciones.

En aquellos casos en los que hemos encontrado niveles de calcio superiores durante el día, pensamos que tiene especial importancia la dieta. Diversas publicaciones relacionan el aumento de calciuria con las ingestas. Cabe destacar el trabajo de Sáez-Torres (115) que analiza una muestra de orina aislada de la tarde en niños sanos y compara los resultados de calciuria con los datos su registro dietético. En este trabajo se observan tasas de hipercalciuria más altas entre los niños que habían realizado una merienda rica en productos lácteos o en productos con alto contenido en sal. Asimismo, el trabajo de Porowsky (95) muestra claramente la presencia de

picos de calcio urinario después del desayuno (8h) y después de la merienda (18h) en una población adulta. En el caso concreto de los resultados de calciuria de nuestras muestras, pensamos que el efecto de la dieta depende en gran medida de si la ingesta de lácteos o de alimentos con contenido elevado de sal ha sido mayor en durante el día (aumentando el calcio en la muestra de 12 horas diurna) o en la cena (condicionando un calcio mayor en la muestra de 12 horas nocturna).

Otro factor determinante de la calciuria es la actividad de resorción ósea, que en este caso sí es predominante en el período nocturno, como consecuencia de la inmovilización, de la acidosis sistémica y de la acción hormonal (57-62). En este sentido, el estudio de García-Nieto en niños (17) analiza las diferencias la concentración de calcio en dos orinas de micción y encuentra una mayor cantidad de esta sustancia en la primera orina de la mañana (en ayunas) respecto a otra muestra recogida antes de acostarse. Por su parte, el estudio de Touitou (120) realizado en niños sanos, muestra calciurias más elevadas a las 21 h (dos horas después de la cena, por lo que puede atribuirse al efecto de la dieta) pero también detecta otro aumento significativo entre las 6 h y 8 h en ayunas, posiblemente relacionado con los cambios fisiológicos en el período nocturno.

Además de los factores relacionados con la diferencias de la dieta y de la acción hormonal entre ambos períodos, pensamos que también se deben considerar las posibles diferencias en la susceptibilidad genética de cada individuo a la acción del calcitriol. Se conocen diferentes polimorfismos de los alelos que conforman el gen del VDR y que pueden condicionar variaciones en la transcripción genética del mismo. En la tesis de Rodrigo, en 2003, se estudiaron los polimorfismos relacionados con la masa ósea (BB, Bb, bb) en niños hipercalcémicos (124). Se determinó la calciuria tras cinco días de restricción dietética completa de calcio y se relacionó con las variantes alélicas de los polimorfismos, observando que la presencia del alelo “B” (respecto al “b”) condicionaba una calciuria claramente superior. Es posible que determinados polimorfismos del gen del VDR condicionen diferentes respuestas transcripcionales tras la unión del calcitriol con su receptor, a favor de una mayor absorción intestinal o de una mayor osteoclastogénesis. Además, como se ha comentado en la introducción, existe un sofisticado sistema reloj que modula la reabsorción ósea mediante una mayor expresión cíclica nocturna del RANKL en los osteoblastos (60). Quizás ello podría explicar que en algunos individuos las calciurias sean superiores durante la noche y que en los que predomine la absorción intestinal del calcitriol, las calciurias sean mayores durante el día.

La concentración de calcio urinario es un factor de especial relevancia en el riesgo de cristalización de sales cálcicas. Así lo demuestran los estudios que hallan picos de riesgo de cristalización en los períodos en los que también observan calciurias más elevadas (81,84,95,120,123). Si valoramos el papel del calcio urinario de forma aislada como determinante del riesgo de cristalización, en nuestro estudio no podemos concluir que exista más riesgo en un período concreto, ya que hemos observado niveles más altos en una u otra muestra dependiendo del sujeto.

6.2.4. Excreción de fósforo

A pesar de que el fósforo es un importante promotor de la cristalización, los estudios que analizan los niveles de fósforo urinario en la población son escasos; de hecho, la mayoría de artículos que describen las alteraciones urinarias encontradas en series de adultos o niños con litiasis no hacen referencia a la hiperfosfaturia. Nuestro estudio muestra valores mayores de eliminación de fósforo en la orina de 12 horas nocturna respecto a la diurna, en los cuatro grupos de la población del estudio. Estos resultados coinciden con los datos publicados por Touitou en niños sanos (120).

La literatura refiere que los niveles de fósforo en sangre presentan un rango de variabilidad de alrededor del 40%, con un pico máximo vespertino, un valle nocturno y de madrugada y un pico menor matutino (125,126).

El fósforo está presente en la mayoría de alimentos y tiene una biodisponibilidad muy alta. Como se ha comentado anteriormente, en el control de la homeostasis de este mineral interaccionan la acción de la fosfatonina FGF23 (sintetizada en el hueso) y la actividad de la PTH y calcitriol, que ejercen su acción principalmente en el intestino y el riñón (20,24). Entre ellos, el riñón ejerce un papel clave en la regulación de la fosfaturia, de tal manera que los períodos con mayor concentración de fósforo en sangre se acompañan de niveles urinarios menores del mismo y viceversa (28-29,126).

Los niveles superiores de fósforo urinario que hemos encontrado durante la noche en nuestro trabajo se pueden explicar por varios mecanismos. Está documentada la existencia de un pico de secreción de PTH durante la madrugada (57). Es conocido que, a nivel óseo, la unión de la PTH a su receptor puede tener un efecto anabólico o catabólico óseo. Este último lo ejerce con valores elevados de PTH, hecho que explicaría la mayor fosfaturia nocturna debido al pico de

secreción de esta hormona durante la madrugada. Además, el aumento de PTH incrementa la actividad de la FGF23 a nivel renal, que se traduce en un aumento de la fosfaturia. Otros factores que pueden contribuir al aumento de la fosfaturia nocturna debido a la actividad resorptiva ósea serían la inmovilización, la acidosis y la mayor transcripción genética del VDR a favor de proteínas implicadas en la osteoclastogénesis (60-62).

Para evaluar las consecuencias que puede tener la variabilidad de la fosfaturia sobre el riesgo de cristalización de la orina de cada uno de los períodos analizados, debemos tener en cuenta una serie de factores. El fósforo es un importante promotor de litiasis cálcicas, pero la sobresaturación urinaria de este soluto no solo depende de la cantidad neta de esta sustancia sino del pH en que se encuentra y que es capaz de comprometer su grado de solubilidad (127). Los datos de nuestro estudio muestran un descenso del pH urinario en la orina de la noche en mayoría de sujetos, por lo que es posible que el aumento del fósforo no provoque un mayor riesgo de cristalización causado por este componente en concreto durante este período. Esta hipótesis se confirma con los hallazgos del estudio de Rodríguez (78), que observa valores mayores de los índices de riesgo AP-Ca-P durante el día respecto a la noche, tanto en población infantil como en población adulta.

Sin embargo, el riesgo derivado del aumento nocturno de fósforo sí puede ser muy relevante en los casos en los que el pH urinario no descienda por debajo de 6,2 en este período, ya que en estos casos la solubilidad de esta sustancia está muy comprometida. De hecho, es conocido que los sujetos con acidosis tubular renal distal presentan un defecto en la capacidad de acidificación de la orina (incluso en los períodos en que ésta debería producirse con más intensidad) lo que favorece la formación de cristales de hidroxapatita (HAP) (15). Cabe destacar que en los individuos de nuestro estudio con este tipo de cálculos (n=4) no observamos una mayor cantidad de fósforo urinario y en cambio sí observamos un menor descenso nocturno del pH respecto al resto de sujetos. De este modo, se refuerza la hipótesis de que, para la cristalización del fosfato cálcico, el pH urinario ejerce un papel más importante que los niveles netos de fósforo.

6.2.5. Excreción de magnesio

Los resultados del patrón de excreción de magnesio entre las muestras de 12 horas diurna y nocturna son diferentes en las distintas poblaciones. Los niveles de magnesio urinario son claramente superiores en la muestra de 12 horas nocturna en la población infantil (tanto sanos

como litiásicos). En la población adulta no hemos hallado en general un patrón claro de diferencias, con individuos que excretan más magnesio de día y otros de noche (con una mayor tendencia a eliminar más magnesio en el período nocturno en el subgrupo de litiásicos). La literatura constata estas diferencias en los niveles de magnesio entre ambos períodos en estudios realizados por separado en niños y adultos. En el trabajo Touitou (120) realizado en niños sanos que siguieron una dieta similar, se describen niveles urinarios de magnesio superiores durante la noche, mientras que, en población adulta sana, el estudio de Kanabrocki, observa niveles urinarios de magnesio inferiores durante el período nocturno (entre las 22 h y las 07 h) (128).

Para explicar estas diferencias, el primer aspecto a considerar es el factor dietético. Existen trabajos que describen que la absorción intestinal de magnesio supone entre el 30 y el 50% de los niveles plasmáticos del mismo. Además, existe una relación lineal entre la ingesta y la eliminación urinaria de magnesio y otros estudios que demuestran picos de magnesuria a los 30 minutos de la infusión parenteral de magnesio (32). Teniendo en cuenta que la muestra de 12 horas diurna recoge la mayoría de ingestas y la muestra de 12 horas nocturna únicamente recoge la cena, cabría esperar que la mayor magnesuria nocturna se produjera en los sujetos con mayor ingesta de alimentos ricos en magnesio en las horas finales del día. En el caso de los niños, pensamos que no nos ayuda a explicar estas diferencias, ya que este tipo de alimentos (como cereales integrales, vegetales y legumbres) no se consumen habitualmente en las cenas de la población infantil. Además, cabe tener en cuenta que otros aspectos relacionados con la dieta modulan indirectamente los niveles de magnesio en orina y pueden influir en los cambios día-noche, como son la ingesta de agua, el aporte de sal o los alimentos ricos en quelantes del magnesio (como el fitato). Así, se podría explicar la mayor excreción nocturna de magnesio en adultos litiásicos respecto a sanos, por la modificación que se indica de sus hábitos dietéticos (9).

Además de la influencia de la dieta, en la homeostasis del magnesio intervienen otros factores que pueden explicar las diferencias detectadas en su eliminación urinaria entre niños y adultos, como es la actividad física. Aunque el diseño del actual estudio no controla la actividad física de los sujetos, cabe pensar que ésta está incrementada en la población infantil respecto a la adulta. El magnesio interviene en la fosforilación oxidativa (síntesis de ATP) y participa en múltiples actividades enzimáticas, siendo mayor en células con metabolismo energético incrementado. La entrada de magnesio iónico plasmático al interior de las células se realiza de forma rápida ante situaciones de necesidad energética (130). De este modo es posible que, ante la disminución del magnesio plasmático secundario a la mayor actividad física durante el día, el riñón actúe de

forma inmediata reabsorbiendo más magnesio (siendo por tanto inferiores los niveles del mismo en orina en este período).

Por otra parte, pensamos que el resto de factores implicados en la homeostasis del magnesio, como son la regulación hormonal o el metabolismo óseo, no nos ayudan a explicar directamente las diferencias de la excreción día-noche del mismo. En primer lugar, al no existir una regulación hormonal directa de los niveles de magnesio, no podemos relacionar las diferencias en la excreción del mismo con los ritmos de secreción de las diferentes hormonas. Asimismo, es sabido que la salida del magnesio desde el hueso al torrente sanguíneo se produce de una forma muy lenta (en meses) incluso en situaciones de hipomagnesemia (131).

En relación al riesgo de cristalización urinaria, teniendo en cuenta la acción inhibitoria del magnesio frente a la cristalización de sales cálcicas, la hipomagnesuria puede exacerbar el riesgo de cristalización urinaria especialmente en los períodos del día en los que concurre hipercalciuria. Si la hipomagnesuria tiene lugar en el período nocturno, cabe destacar que a ello se sumaría además un incremento del riesgo de cristalización relacionado con el descenso del citrato, ya que se conoce la actividad inhibitoria sinérgica de ambas sustancias (64).

6.2.6. Excreción de oxalato

El presente estudio revela que, del mismo modo que ocurre con el calcio, la excreción de oxalato en algunos individuos es mayor durante el día mientras que en otros es mayor por la noche, siendo el porcentaje de cada caso cercano al 50%. Por consiguiente, los valores promedio de excreción son similares en ambos períodos. Este hecho se ha observado por igual en los cuatro grupos analizados, tanto en los individuos sanos como en los litiásicos.

Existen una serie de factores que nos hacen pensar que, en el caso del oxalato, la dieta puede jugar un papel fundamental en las diferencias halladas entre el día y la noche. Sabemos que el oxalato que se detecta en la orina procede en última instancia de la producción endógena y de la ingesta de oxalato libre o de sus precursores.

En el caso del oxalato endógeno, a diferencia de lo que sucede con otras sustancias como el calcio o el fósforo, no hemos encontrado ningún artículo que demuestre la existencia de un ritmo circadiano en alguno de los factores que lo regulen y que pudiera explicar de algún modo la variabilidad encontrada. Por el contrario, sí existen numerosos estudios en los que se constata que la dieta provoca variaciones en la eliminación urinaria de esta sustancia (40,43). Entre estos

estudios merecen especial atención los realizados sobre muestras de sujetos sanos con ingestas controladas, que concluyen que hasta el 50% del oxalato urinario puede proceder de la dieta (42,131). Sabiendo que el oxalato aparece en la orina aproximadamente 5 horas después de la ingesta (132), pensamos que las diferencias detectadas entre la oxaluria diurna y nocturna son debidas principalmente al factor dietético, y que los períodos con mayor oxaluria coinciden con aquellos en los que la ingesta haya incluido un mayor aporte de oxalato o precursores (vitamina C y proteínas) o un menor aporte de sus quelantes (magnesio y calcio).

En nuestro estudio encontramos algunos casos que refuerzan esta hipótesis. Se trata de tres individuos con hiperoxalurias muy elevadas, que además presentan valores diurnos de oxaluria muy superiores a los nocturnos (ver figura 21). Los dos primeros corresponden a dos hermanos del grupo de “niños litíasicos” con un diagnóstico conocido de hiperoxaluria primaria tipo III (portadores homocigotos del cambio patogénico c.123 del en el gen HOGA1). En estos casos, la causa principal de la hiperoxaluria es un exceso de producción endógena del mismo de causa genética, que es un factor constante a lo largo del día y no explica por sí solo las diferencias que hemos hallado entre el día y la noche. Por el contrario, esta variación sí podría ser atribuible a la dieta, ya que hemos podido documentar que estos niños realizaban una ingesta rica en oxalatos durante el día (leche de soja). Además, nuestros resultados parecen apoyar la hipótesis de que la absorción intestinal del oxalato está también está incrementanda de manera importante en la hiperoxaluria primaria aunque debemos señalar que la literatura no es unánime a este respecto (131,133-135). El tercer caso que nos llama la atención de nuestro estudio corresponde a una forma secundaria de hiperoxaluria y se trata de una adulta sana que, aunque presenta niveles de oxaluria elevados en las dos muestras de orina, estos son muy superiores en la recogida durante el período diurno (ver figura 21). Tras ser preguntada, refirió que seguía una dieta vegetariana estricta con alto contenido en oxalato (brócoli, espinacas y soja) y las diferencias de la oxaluria entre ambos períodos pueden ser claramente debidas al mayor número de ingestas que incluye el período diurno.

Además, como hemos explicado, la presencia de las bacterias que degradan oxalato en el intestino (especialmente la *Oxalobacter formigenes*) también influye en su absorción. Se ha documentado la existencia de ritmos circadianos que regulan la actividad de algunas especies presentes en la microbiota intestinal, relacionándolos con patologías como la obesidad o el síndrome metabólico (41,136) pero no existe evidencia de una variabilidad circadiana en la actividad de *Oxalobacter formigenes*. Por ello, a la luz de los datos disponibles hasta la fecha, pensamos que el papel de esta bacteria está relacionado más con la cantidad total excretada del oxalato que con las diferencias de las cifras de oxaluria halladas entre día y la noche (137).

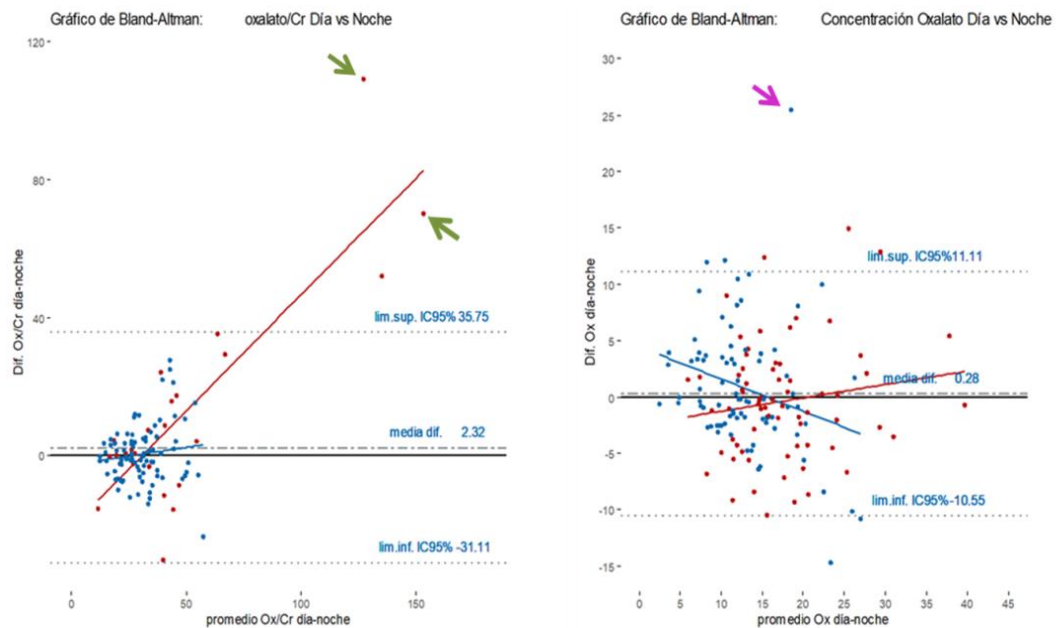


Figura 21. Gráficos Bland-Altman de las diferencias de la excreción urinaria de oxalato entre la orina de 12 horas diurna y nocturna. Se han señalado con flechas verdes los 2 casos pediátricos destacados y con una flecha morada el caso del adulto.

En referencia al papel del oxalato en el riesgo de cristalización, es conocido que los aumentos de oxalato urinario generan un mayor impacto en la sobresaturación de la orina que la de otros solutos tan importantes como el calcio o el fósforo (41,75,138). En un trabajo realizado previamente por nuestro grupo, se evidenciaron resultados del índice AP-CaOx- significativamente mayores durante la noche respecto al día (78).

Los resultados del presente estudio nos permiten intuir que el incremento del riesgo en el período nocturno no es causado por una mayor excreción de oxalato. De hecho, en casi la mitad de los sujetos la excreción de esta sustancia es inferior a la del día. Sin embargo, es importante recordar que el oxalato eliminado por la noche se encuentra con otros factores que comprometen de forma muy importante el equilibrio urinario, como son un menor volumen de orina, una menor cantidad de citrato, una mayor eliminación de fósforo y unas condiciones urodinámicas desfavorables.

6.2.7. Excreción de ácido úrico

Los resultados del estudio revelan que la excreción de ácido úrico es menor en la muestra del período nocturno respecto al día, en la gran mayoría de sujetos de todos los grupos analizados. Estos hallazgos coinciden con los referidos en los trabajos de Oner (139) y Sáez-Torres (115). Está descrito que el descenso nocturno es debido al aumento de la acidosis sistémica que condiciona una mayor actividad del transportador URAT 1 y que provoca el intercambio de aniones orgánicos con ácido úrico en la célula tubular (47). Además, es posible que la depleción de volumen extracelular que se produce durante la noche conlleve un aumento de la reabsorción tubular proximal de ácido úrico, que contribuya también a la disminución los niveles del mismo en la orina.

El ácido úrico está implicado en el proceso de cristalización urinaria de una forma directa, formando cálculos de ácido úrico, e indirectamente al actuar como nucleante heterogéneo en la formación de cristales de oxalato cálcico. En lo que se refiere a la litiasis úrica, a pesar de que por la noche la excreción de esta sustancia es menor que durante el día, es bien conocido que en la formación de estos cristales el factor más importante es el descenso del pH urinario, que disminuye de forma crítica su solubilidad (118). Los trabajos de Boari y Cameron describen el hallazgo de litiasis úrica recurrente en pacientes con niveles urinarios de ácido úrico normales (118,119). Dichos estudios concluyen que la mayor precipitación del ácido úrico por la noche no es debida a la cantidad neta del soluto, si no a la concurrencia de pH ácidos. En el caso de los cálculos en los que el ácido úrico no es el componente mayoritario sino que actúa como nucleante, el riesgo también es mayor por la noche debido a la mayor tendencia formar estos núcleos y a las condiciones urodinámicas desfavorables (15).

En nuestro estudio no lo hemos podido comprobar diferencias en el patrón día-noche en la eliminación de ácido úrico entre sujetos sanos y litiásicos, a pesar de que algunos estudios sí las han observado (118). Pensamos que este hecho puede ser debido a que nuestro trabajo no incluye aquellos grupos donde sí podrían demostrarse y que son los que tienen cálculos de ácido úrico, que son fundamentalmente los pacientes con síndrome metabólico en el caso de los adultos y patologías que conllevan un aumento del catabolismo en el de los niños. En ambos casos, estos sujetos fueron excluidos de nuestra muestra.

6.2.8. Excreción de citrato y variación del cociente calcio/citrato

El estudio muestra niveles de citrato urinario inferiores en la mayoría de muestras de orina de 12 horas nocturna respecto a la diurna, en los cuatro grupos de la población del estudio. Cabe destacar que este porcentaje es más acentuado en los grupos de población pediátrica (observándose en el 98% de los sujetos). Nuestros resultados coinciden con los de diversas publicaciones que estudian las variaciones de los niveles de citrato a lo largo del día. El estudio de Nielsen describe valores de citrato plasmático y urinario superiores tras las ingestas e inferiores durante la noche y en la primera orina de la mañana, en una población de adultos sanos (140). En el trabajo de García-Nieto, que estudia la concentración de citrato urinario en una muestra de orina recogida antes de acostarse comparándola con otra a primera hora de la mañana en ayunas en niños con litiasis renal, se observan valores de citrato urinario inferiores en esta última (17).

Existen varios mecanismos que pueden explicar el descenso de la citraturia durante el período nocturno. Entre ellos, el más importante está relacionado con el efecto tampón que ejerce el citrato en el mantenimiento del equilibrio ácido-base del organismo. La acidosis nocturna producida por el ayuno incrementa el consumo del citrato intracelular, y éste a su vez produce una activación del transportador NaDC1, que aumenta la reabsorción renal de citrato y la entrada intracelular del mismo, con el consiguiente descenso en orina (38).

Las situaciones de acidosis sistémica generan también un aumento de la actividad osteoclástica durante el período nocturno, con la liberación de citrato de la matriz ósea al torrente sanguíneo. Este aumento del citrato plasmático no se traduce en un aumento de los niveles urinarios del mismo, porque es rápidamente metabolizado a bicarbonato. A este respecto, está demostrada la asociación entre descenso de los niveles de citrato urinario y la pérdida de masa ósea, así como los beneficios de los suplementos de citrato en el tratamiento de la osteoporosis (141).

El descenso de los niveles de citrato urinario durante la noche condiciona un mayor riesgo de cristalización en este período, ya que el citrato es un potente inhibidor de la cristalización urinaria de sales cálcicas (64,142). Este hecho se refleja en nuestro estudio al observar las diferencias de un importante indicador de riesgo, como es el cociente calcio/citrato, entre ambas muestras.

Como era esperado, los valores del índice Ca/Cit son superiores en las poblaciones de sujetos litiásicos comparados con los sanos, pero nuestros resultados ponen de manifiesto que estos valores son superiores en las muestras de orina de 12 horas nocturna respecto a la diurna de

manera constante en los cuatro grupos de la población y con diferencias día-noche estadísticamente significativas. El descenso nocturno del citrato es tan acusado que se produce un aumento del valor promedio de este cociente durante la noche, aunque los promedios de calcio entre los períodos diurno y nocturno no muestren diferencias. Este aumento del cociente Ca/Cit durante la noche también ha sido reportado en la literatura, destacando los trabajos de García-Nieto y Sáez-Torres (17,115).

6.3. Patrón circadiano y riesgo de cristalización urinaria

La variación de la composición de la orina a lo largo del día ha sido objeto de diversos estudios hasta la fecha porque lleva consigo la consecuente variación en el riesgo de cristalización en los diferentes períodos. La literatura es unánime a la hora de definir el período nocturno como un período de riesgo aumentado. Los patrones de eliminación de los diferentes solutos durante el día y la noche que hemos constatado en el presente trabajo y la combinación de los mismos (muy importante si se tiene en cuenta que la mayoría de litiasis son de etiología multifactorial) nos ayudan a entender las causas de este hecho.

Respecto a la variación del riesgo de cristalización de sales cálcicas, el primer trabajo fue realizado por Ahlstrand y Tiselius en 1984, que analizó muestras de orina recogidas en fracciones horarias durante 24 horas (18 muestras en total, recogidas cada hora de las 6 h a las 23 h y posteriormente una fracción durante la noche) en una serie de adultos con antecedentes de litiasis de oxalato cálcico que recibieron una dieta similar (81). En este trabajo se constataron picos de sobresaturación de oxalato cálcico en las fracciones de las 6 - 10 h y las 18 - 20 h (81). Posteriormente, el estudio de Robert, que analizó la orina del día entero fraccionada en tres períodos: mañana (8-12 h), tarde (12-19 h) y noche (19-8 h) en una muestra de 25 adultos litíasicos, evidenció valores superiores del índice AP-CaOx- en la orina de la noche (98).

El incremento de riesgo de cristalización durante el período nocturno también se cumple en relación a la formación de litiasis de ácido úrico. De acuerdo con la literatura, nuestro estudio muestra que la eliminación de ácido úrico es menor durante la noche (78,139). Sin embargo, la bajada nocturna del pH urinario objetivada durante este período compromete de forma más importante la solubilidad de este soluto y condiciona un riesgo de cristalización aumentado (37,118,119).

De este modo, la noche se define como un período crítico en la cristalización urinaria para todos los tipos de cálculos (78). Como se ha comentado anteriormente, durante el período nocturno se

producen de manera fisiológica una serie de circunstancias que favorecen este proceso. Por una parte, la menor ingesta hídrica y el pico de secreción de ADH provoca una mayor concentración de la orina durante la madrugada. Además, el ayuno prolongado durante el sueño desencadena acidosis sistémica, que se traduce en un descenso del pH y de los niveles de citrato urinarios. A todo ello se añade la posición prolongada en decúbito durante el descanso, que condiciona una mayor estasis urinaria y favorece la agregación de cristales durante la noche (143).

Estos resultados coinciden con los que ya se había publicado en los trabajos de Sáez-Torres, realizado únicamente en niños sanos, en los que ya se observaban estas diferencias en la bioquímica urinaria entre el período nocturno y una muestra tomada durante la tarde (115,144). La principal limitación del trabajo anterior es que la muestra del período diurno fue una orina aislada recogida después de la merienda. La comparación de los resultados del trabajo actual resulta más fiable, al ser las dos muestras del mismo tipo (orinas minutadas de 12 horas). Además, en este estudio, el hecho de observar consistencia en los patrones de variabilidad no solo en niños sanos sino también en adultos sanos y en sujetos litíasicos, añade solidez a los resultados.

Nuestros hallazgos nos hacen intuir que a pesar de que todos los grupos presentan un perfil de riesgo de cristalización mayor durante el período nocturno, son principalmente los sujetos afectados de litiasis los que presentan una excreción neta de solutos que les condiciona un mayor perfil de riesgo. Por lo tanto, como ya hemos señalado anteriormente, la formación de los cálculos no parece estar relacionada con una pérdida de un determinado patrón circadiano de los parámetros urinarios, sino que con la cantidad excretada de los mismos produce niveles críticos de sobresaturación de la orina. Sin embargo, en los pacientes con cálculos de hidroxapatita, que posiblemente presentan acidosis tubular renal, sí hemos observado una pérdida del patrón esperado de variabilidad que afecta al pH urinario (ya que en estos casos el pH urinario es igualmente alto de día y de noche).

6.4. Aplicación clínica del conocimiento del patrón circadiano en la eliminación de los solutos implicados en la litiasis renal

La existencia de una variabilidad circadiana bastante definida en la composición de la orina, hace plantear la posibilidad de elaborar estrategias de diagnóstico, de prevención y de tratamiento que contemplen este patrón.

Los resultados muestran que el período nocturno presenta un mayor riesgo de cristalización urinaria que el diurno, tanto en población sana como en individuos litiasicos. En los sujetos sanos, como hemos señalado, este hecho no implica necesariamente que se vaya a formar un cálculo en dicho período, pero sí se puede producir si se mantienen esas condiciones a lo largo del tiempo o se añaden factores urodinámicos desfavorables. Por ello, creemos conveniente diseñar estrategias de prevención en la población que estén encaminadas a contrarrestar los factores de riesgo que sabemos predominan en este período. Éstas serían, por ejemplo: promover una adecuada ingesta hídrica y prestar especial atención al contenido de nutrientes de la cena, aconsejando no abusar de proteína animal, alimentos salados o lácteos y aumentar el consumo de frutas con contenido cítrico en esta ingesta. Estas mismas indicaciones también son aplicables a los pacientes con litiasis, en los que la ingesta de agua y las medidas dietéticas forman un pilar fundamental para intentar evitar el crecimiento de cálculos ya formados o en la prevención de las recurrencias.

En cuanto al manejo farmacológico del paciente litiasico, el conocimiento del patrón circadiano de eliminación de los diferentes solutos puede indicarnos el mejor momento del día para administrar los tratamientos en función de la alteración subyacente. La optimización de los fármacos adaptándose a los ritmos biológicos, se denomina cronoterapia. Actualmente ya se contempla en algunas patologías, como la indicación de hipolipemiantes por la noche (cuando tiene mayor actividad la HMG CoA reductasa) o la de antiinflamatorios para la artritis reumatoide, que se administran preferentemente antes de acostarse (porque es conocido que el dolor suele ser más intenso a primera hora de la mañana).

En los últimos años se han producido avances en ciertas patologías, especialmente en la hipertensión arterial, con el diseño de fármacos de liberación prolongada que se ajustan al momento del día en el que se incrementan los niveles de presión arterial (108,109). Esta dosificación incrementa la efectividad de los tratamientos y reduce los efectos secundarios de los mismos. En el caso de la litiasis renal, los fármacos más empleados para el tratamiento de las alteraciones metabólicas urinarias son las tiazidas y los suplementos de citrato. Nuestros resultados nos llevan a pensar que determinados tratamientos podrían tener un mayor efecto si se administran por la noche. Es conocido que los suplementos de citrato potásico tienen una vida media corta y que si se administran alejados de los picos de riesgo de cristalización urinaria disminuye su efecto terapéutico. Existen formas de liberación más prolongada, pero se trata de comprimidos de gran tamaño y por consiguiente de difícil administración, especialmente en población infantil. Recientemente se ha comercializado la forma granulada, pero tiene un elevadísimo coste y únicamente está financiada en los casos de acidosis tubular renal tipo I.

Aunque no se ha encontrado en la literatura ningún trabajo que evalúe específicamente la cronoterapia dirigida a la litiasis renal, en una reciente publicación de Tiselius, en la que el autor recomienda una dosis de citrato potásico a última hora de la tarde, puede ser en cierto modo un ejemplo de ello (127). Nosotros coincidimos con esta afirmación y pensamos que los suplementos de citrato administrados por la noche cumplirían de modo más eficaz un doble objetivo: por un lado, el de suplementar la orina con este soluto durante las horas en las que la cantidad del mismo cae significativamente (especialmente importante en los cálculos en los que el citrato juega un papel clave como inhibidor de cristalización) y por otro lado, por el efecto alcalinizante de estos suplementos, al contrarrestar el descenso nocturno del pH urinario (especialmente importante en el tratamiento y prevención de litiasis en las que está implicado el ácido úrico). A nuestro juicio, esta dosis de citrato se debería recomendar después de una ingesta (por ejemplo, tras la cena) para evitar una posible intolerancia digestiva.

Por otra parte, a la luz de nuestros resultados, pensamos que hay un grupo de pacientes que hay que considerar de forma particular. Son aquellos pacientes afectados de litiasis cálcicas en los que la calciuria es mayor en el período diurno y en los que sospechamos la presencia de una hipercalciuria de tipo absortivo (con picos de eliminación de calcio tras las ingestas). En estos casos, pensamos que el mayor beneficio de los suplementos de citrato se obtendría si es administrado después de las ingestas en las que predominen los productos lácteos (fundamentalmente el desayuno). Del mismo modo, respecto al uso de las tiazidas para el tratamiento de la hipercalciuria idiopática, teniendo en cuenta su vida media corta, los resultados de nuestro estudio parecen indicar que se podría optimizar su efecto si se administra tras las ingestas de productos lácteos o ricos en sal, como por ejemplo tras el desayuno o la merienda (en las hipercalciurias absortivas) o bien antes de acostarse (en las de tipo resortivo). Respecto a su administración nocturna, su recomendación se ve limitada por el inconveniente del aumento de la diuresis, que podría inducir nicturia o enuresis.

6.5. Utilidad de la muestra de orina de 12 horas nocturna para la evaluación del paciente con litiasis renal

El estudio metabólico urinario está encaminado a detectar la presencia de riesgo de cristalización y las causas que lo determinan, con objeto de corregirlas o compensarlas y evitar en lo posible la formación de nuevos cálculos o el crecimiento de los ya existentes. Esto es especialmente importante si consideramos que los casos de litiasis renal están aumentando en todo el mundo, sobre todo en el grupo de los adolescentes de entre 14-18 años (2,3,145).

Además, las tasas de recurrencia descritas en la literatura se encuentran en niveles alarmantes, afectando entre el 50 y 70% de los adultos con antecedente de litiasis, con más frecuencia entre los casos en los que no se asocia un tratamiento profiláctico adecuado (1,3). En la edad pediátrica, se estima que este porcentaje de recurrencia se encuentra entre el 16 y 54% de los niños, especialmente en los menores de diez años, por su mayor tendencia a asociar malformaciones del tracto urinario, alteraciones metabólicas o ambas (4,72). En ellos, además, la variabilidad de la sintomatología clínica puede traducirse en un retraso diagnóstico que condicione la persistencia de dichas alteraciones y en consecuencia, favorezca la formación del cálculo. Por ello, el estudio de la composición de la orina resulta esencial en el diagnóstico y seguimiento del paciente con antecedente de litiasis o con condiciones que aumenten el riesgo de desarrollarla.

Las guías clínicas recomiendan el análisis de una e incluso de varias muestras de orina de 24 horas para el estudio metabólico urinario (80,87,146,147), pero la recogida de la orina del día entero es dificultosa para el paciente (especialmente en el caso de los niños). Este hecho da lugar a frecuentes errores en la toma de muestra que, consecuentemente, interfieren en la interpretación de los resultados (90,99). Además, como se ha explicado anteriormente, se ha demostrado que la evaluación de la orina recogida durante 24 horas puede subestimar la detección de picos de riesgo de cristalización que tienen lugar en determinados períodos del día, ya que este tipo de muestra del día entero mezcla orinas de períodos de mayor riesgo con otras de períodos de riesgo bajo. Ello puede ser la causa de que no se encuentre la alteración subyacente en muchos pacientes con litiasis y, por consiguiente, se pierdan oportunidades de optimizar el tratamiento. Con el fin de subsanar esta segunda desventaja, Wu y Tiselius sugieren realizar el análisis seriado de orinas recogidas en períodos cortos del día, proponiendo diferentes fracciones de tiempo (84). Sin embargo, el uso de este método sigue siendo dificultoso para el paciente y supone un incremento del coste económico.

Existen trabajos que evalúan otras alternativas más sencillas, como son el análisis de muestras de orina de micción aislada recogidas en las horas del día de mayor riesgo: tras el desayuno, (entre las 8 y las 10 h) o bien la última orina del día y la primera orina de la mañana (17,95,148). Estas alternativas basadas en el análisis de la orina de micción tienen como inconveniente que son muy dependientes de la ingesta puntual que pueda realizarse las horas previas a la recogida y además, que no aportan información sobre la diuresis del sujeto, tan importante a la hora de evaluar al paciente con riesgo de litiasis.

Más recientemente se ha propuesto el análisis de la orina de 12 horas nocturna como herramienta útil para la evaluación de estos pacientes. Este tipo de muestra puede, en cierto modo, reunir las ventajas de la orina de 24 horas (por ser una orina minutada que aporta información de parámetros como el volumen urinario y la excreción minutada de solutos), siendo a su vez menos afectada por determinadas circunstancias puntuales (tales como ingestas o práctica de ejercicio físico intenso) que las orinas de micción aislada. Por otro lado, aun siendo más laboriosa de recoger que las micciones aisladas, no presenta la dificultad de la orina del día entero ya que además de abarcar un período más corto, éste se corresponde con la franja horaria en la que el paciente pasa más horas en su domicilio. Además de estas ventajas, que afectan a aspectos metodológicos de la toma de la muestra, la elección de la franja horaria nocturna está avalada por numerosos estudios que, como el nuestro, demuestran que la noche es un período de riesgo aumentado de cristalización (17,37,78,98,81,118,119).

El uso de la orina de 12 horas nocturna en la práctica clínica, requiere el abordaje diferentes cuestiones. La primera es conocer el grado de correlación que existe entre los resultados obtenidos en esta muestra y los de la orina de 24 horas, que se considera actualmente como el test de referencia para los estudios metabólicos. Recientemente, el trabajo de Hinck, que comparaba la excreción de solutos de la muestra de orina de 12 horas nocturna con la muestra de orina de 24 horas, reveló una fuerte correlación entre ambas muestras, con valores más altos que los descritos cuando se comparaba la orina de 24 horas con la primera orina de la mañana (probablemente porque la muestra de 12 horas abarca un mayor tiempo de recogida y también porque recoge la influencia de la ingesta de la tarde y noche) (90). En nuestro estudio también hemos hallado una fuerte correlación entre ambas muestras, con coeficientes de correlación que se sitúan cerca del 0,9 en todos los parámetros. Aun así, este dato por sí solo no es suficiente para asumir que podemos realizar indistintamente el estudio metabólico en la orina de 12 horas nocturna o en la de 24 horas, ya que al aplicar puntos de corte concretos, las posibles diferencias en los resultados de una u otra muestra pueden ser causa de discrepancias en los diagnósticos que se realicen.

Para intentar aclarar este aspecto, debemos recordar que el diagnóstico de alteración metabólica implica evaluar si la cantidad de soluto excretada (que puede expresarse como cantidad total en 24 horas o mediante el cálculo de los índices urinarios) se encuentra fuera del rango de la normalidad. En el primer caso, cuando se evalúa la cantidad neta de soluto en orina, los valores de referencia de que disponemos en las guías actuales corresponden únicamente a los de orina de 24 horas. El hecho de intentar hacer la evaluación en una orina de un periodo diferente, obliga a hacer algún tipo de cálculo previo para inferir los resultados a excreciones en 24 horas.

En el caso de orina de 12 horas, esto se suele hacer multiplicando por dos los valores obtenidos y asumiendo que ésta es una aproximación fiable a los del día entero.

En el presente estudio, en que disponemos de los valores reales de la orina de 24 horas, hemos podido realizar la comparación y observamos que, para la mayoría de parámetros, las diferencias son importantes y reflejan una vez más la variabilidad circadiana de la composición de la orina. De forma prácticamente constante en todos los grupos de población, el cálculo a partir de los valores en 12 horas nocturnas sobreestima la excreción en 24 horas de fósforo y magnesio, mientras que, por el contrario, la cantidad calculada de otros solutos como el oxalato y, sobre todo el ácido úrico y el citrato, es inferior a la real, con diferencias especialmente marcadas en los dos últimos. En los solutos en los que veíamos que el patrón de variabilidad día-noche no era uniforme en la población (sobre todo en el caso del calcio) estos hallazgos pueden variar según el sujeto.

Los posibles errores diagnósticos derivados de realizar los cálculos a partir de las muestras de 12 horas nocturnas y aplicar sobre ellos los puntos de corte de uso habitual (obtenidos a partir de muestras de orina del día entero), dependen del tipo de alteración metabólica que se considere. Así, tomando como ejemplo dos solutos que se excretan en menor cantidad por la noche, como son el citrato y el ácido úrico, el hecho de infraestimar la cantidad real de soluto, al realizar el cálculo, puede llevar a realizar más diagnósticos de hipocitraturia (porque al ser un inhibidor, la alteración es por defecto de cantidad) y menos diagnósticos de hiperuricosuria (porque la alteración implica un exceso de excreción) que si se evaluara la orina de una recogida real de 24 horas. Nuestro estudio no nos permite conocer si estas discrepancias son suficientes para que las decisiones derivadas de las mismas tengan algún tipo de trascendencia clínica en el manejo del paciente con litiasis. Pensamos que sería muy útil realizar estudios que aborden esta cuestión y que éstos aportarían información valiosa sobre la forma más conveniente de utilizar este tipo de muestra alternativa.

La segunda manera de evaluar los resultados de excreción de solutos en orina es mediante el cálculo de los índices urinarios. El hecho de referir la cantidad de soluto a la de una sustancia que se excreta de forma relativamente constante a lo largo de día (creatinina), proporciona una información especialmente útil en los tipos de muestra no minutadas en las que se desconoce el factor tiempo, como es la orina aislada (92,148). Por otro lado, el cálculo de los índices es la herramienta que se adapta mejor a la población infantil, ya que la creatininuria varía en función de la edad y de los parámetros antropométricos del sujeto (102) y, por tanto, el referir las cantidades de soluto en orina de un paciente a las de creatinina del mismo paciente, actúa como

factor de corrección y permite aplicar puntos de corte extraídos de estudios poblacionales con rangos de edad más amplios (92,149-151). De hecho, muchos estudios utilizan los índices para comparar los resultados de alteraciones metabólicas hallados en grupos de edades diferente o, incluso, en tipos de muestras de orina diferentes (por ejemplo, cuando se quiere comparar una orina aislada con algún tipo de orina minutada, o cuando se comparan dos orinas minutadas de diferente duración de recogida) (90). En nuestro estudio, la comparación de los índices entre las orinas de 12 horas nocturna y los del total de 24 horas, muestra una vez más la variabilidad descrita en la composición de la orina. El hecho de referir la cantidad excretada de soluto a la creatininuria no anula estas diferencias y, en nuestra opinión, pensamos que supone una limitación a la hora de aplicar, en un tipo de muestra, valores de referencia que proceden de otra diferente.

En el presente estudio, hemos utilizado el cálculo de los índices urinarios para analizar las alteraciones metabólicas que detectamos a partir de los resultados de la orina de 12 horas nocturna y para compararlas con las que se detectan partiendo de los de la orina de 24 horas de los mismos sujetos. Aun siendo conscientes de la limitación que supone aplicar los mismos puntos de corte a dos tipos de muestra diferentes (ver sección de metodología), no hemos encontrado otro modo de realizar el análisis, ya que actualmente no disponemos de los valores de referencia propios de la orina de 12 horas. En niños se ha realizado la comparación para todos los solutos urinarios, ya que disponemos de los valores de referencia de los índices para cada uno (82,100). En población adulta carecemos de información para muchos de ellos, ya que se suelen utilizar las excreciones netas para los diagnósticos) (152) y, por ello, sólo hemos evaluado la presencia de hipercalciuria e hipocitraturia en base a los índices urinarios. En relación al cociente Ca/Cit, hemos utilizado el punto de corte de 0,33 mg/mg en los dos rangos de edad, ya que se trata de una relación promotor/inhibidor que ha mostrado, por sí sola, un riesgo aumentado de cristalización de la orina (153,154).

Las tablas de comparación de los diagnósticos en ambas muestras arrojan resultados que pensamos que pueden ser muy interesantes. Lo primero que nos propusimos evaluar es cuántos resultados alterados en 24 horas podrían quedar sin diagnosticar si sólo se evaluara la orina de 12 horas nocturna. En este sentido, las tablas nos muestran que el número de diagnósticos “perdidos” al usar esta muestra nocturna es inferior al 1% (la mayoría son del 0%) para las alteraciones que hacen referencia al citrato, magnesio, fósforo y oxalato. En el caso de los diagnósticos de hiperuricosuria, las cifras son ligeramente superiores, de modo que quedarían sin diagnosticar entre un 2 y un 4% de sujetos. Únicamente en el caso del calcio, al que haremos mención más tarde, ascienden algo más. Por lo tanto, lo primero que podemos concluir es que la

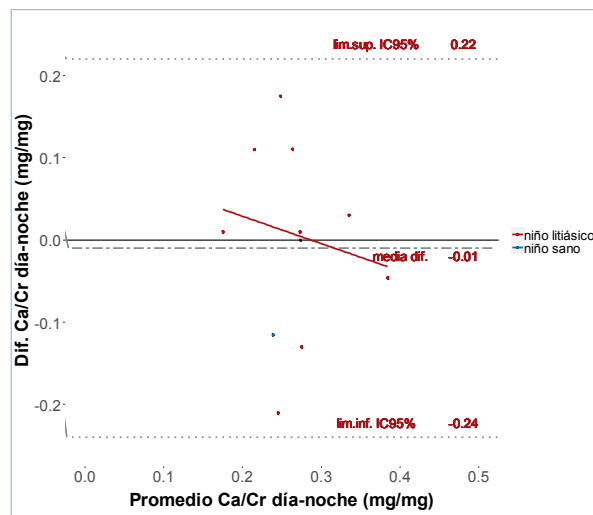
evaluación de la orina de 12 horas nocturna parece que no impediría la detección de alteraciones en la inmensa mayoría de pacientes y, tal vez, incluso podría repercutir en un mayor rendimiento en la práctica clínica si, como parece, se demostrara que conlleva menos errores de recogida que la de 24 horas.

Por el contrario, en la evaluación de la orina de 12 horas nocturna sí que hemos encontrado un número algo más elevado (aunque en ningún caso ha sido superior al 18%) de alteraciones que no son catalogadas como tales al evaluar el conjunto de la orina del día entero. Este hallazgo era esperable en un tipo de muestra que recoge la orina de un período del día en el que la combinación de solutos configura un patrón de riesgo más elevado de cristalizar. El diseño de nuestro estudio no nos permite conocer si estas alteraciones son “falsos diagnósticos” o si, por el contrario, son alteraciones que repercuten sustancialmente en el riesgo de cristalizar, y que la evaluación de la orina del día entero ha podido pasar por alto. En este sentido, nosotros pensamos que la evaluación de la orina nocturna, tal vez pueda ayudar a detectar trastornos susceptibles de ser corregidos y que subyacen en un gran número de litiasis que en la actualidad son catalogadas de idiopáticas.

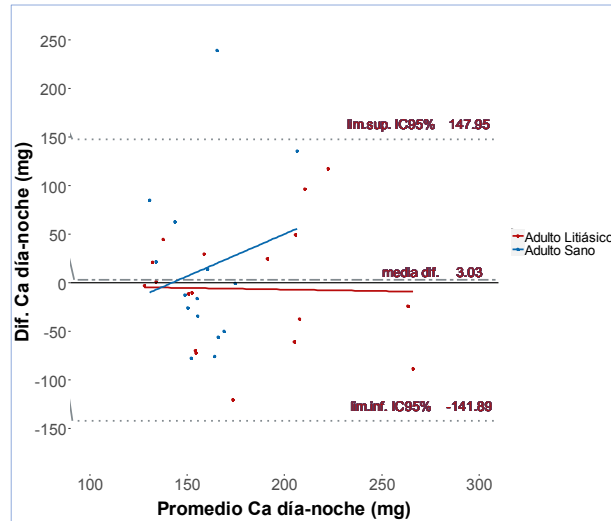
Hemos querido estudiar con más detalle el caso del calcio, porque para esta sustancia los resultados han mostrado un número similar de los dos tipos diagnósticos “discordantes” (aunque en ningún caso el porcentaje de discordancias supera el 15%). De este modo, las evaluaciones en orina de 12 horas muestran un número similar de “diagnósticos de hipercalciuria” no corroborados en el análisis de 24 horas que de “hipercalciurias no diagnosticadas” que sí aparecen en la evaluación del día entero. Ello se debe a que el calcio no sigue un patrón tan uniforme de variabilidad diurna como otras sustancias. Por ello, hemos evaluado por separado las diferencias día-noche de la eliminación de calcio en los individuos hipercalciúricos (diagnosticados a partir de un valor de $Ca/Cr > 0,20$ en la muestra de orina de 24 horas) (figura 22).

Este análisis de subgrupo revela hallazgos idénticos a los observados en la evaluación global de la población (con la mitad de sujetos que eliminan más calcio durante el día y la otra mitad durante el período nocturno). De hecho, es bien conocido que la hipercalciuria como alteración metabólica tiene un predominio absorbivo en algunos sujetos (y por consiguiente se manifiesta con más intensidad en la orina del día) mientras que en otros prevalece el componente resorptivo (que suele intensificarse por la noche) (66). En este sentido, para evaluar la hipercalciuria y el componente que predomina, muchos autores recomiendan incluir en los protocolos una muestra de orina postprandial (95).

A nuestro juicio, la muestra más adecuada para este fin sería la recogida después del desayuno, ya que esta ingesta suele incluir alimentos con alto contenido en calcio (como los lácteos) y además su horario facilita la entrega en el laboratorio de análisis. Pensamos que la propuesta de combinar la orina de 12 horas nocturna con una micción aislada postprandial puede ser de gran utilidad.



(A)



(B)

Figura 22. Gráficos de Bland-Altman de las diferencias de la eliminación de calcio en los individuos hipercalcémicos (diagnosticados con la muestra de orina de 24 horas) en (A) niños sanos y litiasicos y (B) adultos sanos y litiasicos.

Tomando todos estos datos en conjunto y a pesar de las limitaciones del estudio, pensamos que no se pueden pasar por alto los posibles beneficios que puede aportar la orina de 12 horas nocturna en el estudio metabólico del paciente con litiasis, empezando por la simplificación que supone su recogida. Junto con ello, partiendo de que la finalidad del análisis de la orina es detectar alteraciones susceptibles de aumentar el riesgo de formar cálculos, nuestros resultados parecen mostrar que la orina 12 horas nocturna tiene una capacidad no inferior a la orina de 24 horas para objetivarlas. E incluso es posible que esta capacidad sea superior en muchos casos, pues al tratarse de una orina nocturna podría alertar de la presencia de picos de riesgo que pasarían desapercibidos en el protocolo habitual.

Aun así, los datos del presente estudio y los de la literatura hasta la actualidad, no nos permiten concluir que, a día de hoy, la orina de 24 horas pueda ser sustituida por la de 12 horas nocturna para la evaluación del paciente con litiasis. Creemos que faltan estudios que demuestren que las alteraciones que hemos diagnosticado en orina de 12 horas, con las herramientas de que disponemos en la actualidad, son realmente tales y que condicionan un aumento significativo del riesgo.

Asimismo, se debe abordar también la cuestión de si la toma de decisiones basada en los resultados de esta orina, aporta los mismos o más beneficios clínicos (en cuanto a control y prevención de la enfermedad) que las que se proceden de las evaluaciones de la muestra de 24 horas. Ahora bien, cuando se hace imprescindible un protocolo simplificado de recogida de orina (por imposibilidad de recoger la muestra del día entero), se podría considerar el análisis de la muestra de 12 horas del período nocturno, acompañado de una muestra de orina de micción recogida en un período postprandial del día. En este caso, a la hora de interpretar los resultados será muy importante tener en cuenta los patrones de variabilidad circadiana que hemos descrito.

También pensamos que la orina de 12 horas nocturna puede tener utilidad actualmente en el seguimiento de determinados pacientes con litiasis que ya han sido evaluados previamente con el estudio de al menos dos muestras de orina de 24 horas. Por el contrario, la recogida de la orina durante la noche no representaría un beneficio para el paciente con estilos de vida y de alimentación que modifiquen el patrón horario de riesgo, o en pacientes con enuresis. En estos casos se debe considerar el análisis de otro tipo de muestra, tal vez la orina de 12 horas diurna.

6.6. Resultados de los parámetros urinarios en las muestras de orina de 12 horas diurna, 12 horas nocturna y 24 horas en individuos sanos

Los hallazgos observados en nuestro estudio muestran que el análisis de la orina fraccionada de 12 horas nocturna puede tener utilidad en la evaluación del riesgo de cristalización urinaria. Junto con ello, el presente trabajo evidencia que no es adecuado extrapolar los resultados hallados en la orina de 12 horas nocturna al total de 24 horas y que, para la correcta interpretación de los resultados de la primera, es preciso disponer de valores de referencia adaptados a este tipo de muestra en población sana.

Después de realizar una búsqueda en la literatura, hemos constatado que existen muy poca información acerca de los valores normales en muestras de orina fraccionada de 12 horas, por lo que es posible que los datos de distribución percentilada de valores urinarios que aportamos en este trabajo puedan ser de utilidad.

La mejor definición de valores de referencia y puntos de corte de la normalidad, procede de los estudios que realizan seguimiento de poblaciones sanas y que evalúan qué parámetros están relacionados con la aparición de las diferentes patologías, estableciendo una correlación directa entre el valor del parámetro a estudio y el evento clínico. Estos estudios son muy laboriosos, largos y costosos, y suelen requerir el seguimiento de un gran número de sujetos para detectar un número apreciable de eventos clínicos objetivo. Por tanto, la forma más frecuente de definir estos valores normales es mediante el uso de parámetros estadísticos en una muestra de población sana. Para que estos sean lo más fiables posible a la hora de aplicarlos en la clínica, deben estar actualizados y realizados en una muestra representativa de población procedente de un entorno geográfico similar al del paciente y que aporten datos de diferentes franjas de edad y sexo al que poder referir cada caso. La existencia de valores extremos respecto a la distribución estimada en la población se considera anormal. Ahora bien, es importante tener en cuenta que la valoración como patológica deberá venir de una evaluación global del caso, incluyendo datos clínicos y analíticos.

En relación a los resultados de eliminación de solutos en las fracciones de orina de 12 horas, únicamente hemos hallado el trabajo de Sáez-Torres, que define los valores de referencia en una población de 189 niños sanos de edades entre 5 y 12 años en orina de 12 horas nocturna (144). Pensamos que, añadidos a éstos, los datos de nuestro estudio en individuos sanos pueden ser de

gran valor para aportar valores de normalidad, porque amplía el tamaño de la muestra y las edades de los niños, y aporta también datos en población adulta. Aunque serían necesarios más estudios, creemos que estos valores pueden ser de utilidad cuando se utilice la orina de 12 horas, ya que en la actualidad no disponemos de otros datos en nuestro entorno para este tipo de muestra y somos conscientes de los posibles errores que plantea usar valores de referencia extraídos de una muestra en otra diferente.

Para la orina de 24 horas sí que existe más información en la literatura y en las guías clínicas sobre los valores normales de los diferentes parámetros, pero existen muy pocos trabajos que aporten esta información referidos a población sana de nuestro medio (65) y que esté actualizada, por lo que nuevamente nuestros datos pueden resultar de interés en nuestro entorno geográfico.

A la hora de tener en cuenta nuestros resultados es importante destacar que nuestro estudio incluye una muestra de población sana de 169 sujetos (87 niños y 82 adultos) con una distribución por sexos similar. Aunque el tamaño de la muestra es limitado, pensamos que el número de sujetos analizados es significativo, si se tiene en cuenta la dificultad de obtención de las muestras de orinas minutas de períodos largos en voluntarios sanos, sobre todo en el caso de los niños. De hecho, al revisar las series más importantes realizadas en una población pediátrica de un rango de edad similar al nuestro, tanto de ámbito internacional (como la de Matos, Leumann o de Santo (155–157) o nacional (como el estudio de Hernández (158), el de Melián y García Nieto (159) o el estudio Harutxo (160)), observamos que analizan muestras de alrededor de 150-220 sujetos. Incluso en los estudios con series más extensas de pacientes, como el de Safarinejad (con más de 900 sujetos) (161), la orina minutada se analiza únicamente en un subgrupo menor, de tamaño similar a los anteriores.

Otro aspecto a tener en cuenta es que muchas de estas cohortes de sujetos sanos se habían reclutado en las consultas externas hospitalarias, lo que puede arrojar algunas dudas acerca de si realmente son sujetos sanos. En nuestro estudio, los niños fueron reclutados en colegios y los adultos en el entorno extra hospitalario de los investigadores y entre los padres de los niños, lo que ha minimizado este tipo de sesgo de selección. Teniendo en cuenta estas cuestiones, pensamos que los datos que aquí se aportan pueden ser gran utilidad a la hora de actualizar los valores de referencia de eliminación urinaria de solutos en nuestro entorno.

CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES

- El análisis de dos muestras consecutivas de orina de 12 horas (diurna y nocturna) revela la existencia de una variabilidad en la composición de la orina a lo largo del día. Los patrones de variabilidad día-noche son similares en los cuatros grupos de población del estudio para todos los parámetros, excepto para el magnesio. De este modo:
 - o El volumen urinario es mayor en la muestra de 12 horas diurna, aunque en el grupo de litiásicos las diferencias día-noche son muy reducidas, posiblemente debido a la recomendación de beber abundante líquido para el tratamiento de esta patología.
 - o El pH y la excreción de citrato y ácido úrico son inferiores en la muestra de orina de 12 horas nocturna, mientras que la eliminación de fósforo es mayor en esta muestra respecto a diurna.
 - o Para la excreción de calcio y de oxalato no se ha encontrado un patrón claro en el conjunto de la población del estudio, ya que se observan individuos con valores de calciuria y oxaluria más elevadas en el período diurno y otros en el período nocturno.
 - o La eliminación de magnesio presenta un patrón de mayor excreción nocturna en población infantil (tanto en sanos como en litiásicos) mientras que en los adultos no se encuentran diferencias tan claras entre el día y la noche.

- Respecto a las diferencias en la eliminación de solutos entre los sujetos sanos y litiásicos, en las muestras de orina de los últimos se observa una mayor eliminación de promotores de la cristalización y una menor cantidad de inhibidores, sin hallar diferencias en los patrones de variabilidad día-noche entre ambos grupos.

- El período nocturno presenta una combinación de factores clásicamente asociados a un mayor riesgo de cristalización urinaria. El menor volumen de orina, el descenso de la citraturia, el aumento del cociente calcio/citrato y de la fosfaturia favorecen la cristalización de sales cálcicas. Por otra parte, el descenso del pH urinario favorece la cristalización del ácido úrico, que puede inducir litiasis úrica o cálculos mixtos con oxalato cálcico, en los casos en los que el ácido úrico actúa como nucleante heterogéneo.

- El cálculo de los cocientes urinarios en la muestra de orina de 12 horas nocturna, comparado con el análisis de la orina de 24 horas, parece permitir el diagnóstico de las alteraciones metabólicas en la inmensa mayoría de los sujetos. La muestra de 12 horas nocturna detecta además otras alteraciones que pasan inadvertidas en el análisis de la muestra de orina del día entero.

- La distribución percentilada de los valores en la orina de 12 horas diurna, 12 horas nocturna y 24 horas, en niños y en adultos sanos, puede contribuir a definir o actualizar los valores de referencia de la bioquímica urinaria en estos tipos de muestra.

TRANSFERIBILIDAD DE LOS RESULTADOS: DEL LABORATORIO A LA CLÍNICA

- El análisis de la muestra de orina fraccionada de dos períodos consecutivos de 12 horas puede ser un complemento al análisis del total de 24 horas en la orientación fisiopatológica de los pacientes con hipercalciuria. Asimismo, la muestra nocturna puede contribuir a detectar anomalías que pasan desapercibidas en el análisis conjunto de la orina de 24 horas.
- En la búsqueda de un protocolo simplificado de estudio de la litiasis, la muestra de orina de 12 horas nocturna podría ser una herramienta útil para la detección del riesgo de cristalización de sales cálcicas y de la mayoría de anomalías metabólicas. Sin embargo, en los pacientes con hipercalciuria, se debería complementar con el análisis de una muestra de orina postprandial, tras una ingesta de alimentos ricos en calcio.
- El conocimiento de la variabilidad circadiana de la composición de la orina puede contribuir al avance en la cronoterapia de los fármacos utilizados en la litiasis renal, optimizando de esta forma la administración de los tratamientos en los períodos de mayor riesgo.
- Resulta incorrecta la práctica habitual de duplicar los resultados de una fracción de la orina (diurna o nocturna) e inferirlos al día entero, por lo que es preciso disponer de valores de referencia adaptados a cada tipo de muestra.
- Disponer de valores de referencia de la bioquímica urinaria actualizados, adecuados a nuestra población y a cada tipo de muestra es de gran importancia para mejorar el diagnóstico de las alteraciones relacionadas con la litiasis renal.

BIBLIOGRAFIA

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Ziembra JB, Matlaga BR. Epidemiology and economics of nephrolithiasis. *Investig Clin Urol.* 2017;58:299–306.
2. Sharma AP, Filler G. Epidemiology of pediatric urolithiasis. *Indian J Urol.* 2010;26(4): 516–522.
3. Hernandez JD, Ellison JS, Lendvay TS. Current trends, evaluation, and management of Pediatric Nephrolithiasis. *JAMA Pediatr.* 2015;169(10):964–70.
4. Bayne AP, Cambareri GM, Kovacevic L, Bayne AP, Giel D, Corbett S. National multi-institutional cooperative on urolithiasis in children: Age is a significant predictor of urine abnormalities. *J Pediatr Urol.* 2015;11:218–223.
5. Sorokin I, Mamoulakis C, Miyazawa K, Rodgers A, Talati J, Lotan Y. Epidemiology of stone disease across the world. *World J Urol.* 2017 Sep 1;35(9):1301–1320.
6. Howles SA, Thakker RV. Genetics of kidney stone disease. *Nat Rev Urol.* 2020;17:407–421
7. Grases F, Costa-Bauza A, Prieto RM. Renal lithiasis and nutrition. *Nutr J.* 2006;5:1-7.
8. Meschi T, Maggiore U, Fiaccadori E, Schianchi T, Bosi S, Adorni G. The effect of fruits and vegetables on urinary stone risk factors. *Kidney Int.* 2004;66(6):2402–2410.
9. Taylor EN, Curhan GC. Diet and fluid prescription in stone disease. *Kidney Int.* 2006;70(5):835–839.
10. Parivar F, Low RK, Stoller ML. The influence of diet on urinary stone disease. *J Urol.* 1996;155:432–440.
11. Negri AL, Spivacow R, Del Valle E, Pinduli I, Marino A, Fradinger E. Clinical and biochemical profile of patients with “pure” uric acid nephrolithiasis compared with “pure” calcium oxalate stone formers. *Urol Res.* 2007;35(5):247–251.
12. Kuroczycka-Saniutycz E, Porowski T, Protas PT, Psockowska M, Porowska H, Kirejczyk JK. Does obesity or hyperuricemia influence lithogenic risk profile in children with urolithiasis? *Pediatr Nephrol.* 2015;30(5):797–803.
13. Grases F, Isern B, Sanchis P, Perello J, Torres JJ, Costa-Bauza A. Phytate acts as an inhibitor in formation of renal calculi. *Front Biosci.* 2007;12(7):2580–2587.
14. Grases F, Rodriguez A, Costa-Bauza A. Theobromine inhibits uric acid crystallization. A potential application in the treatment of uric acid nephrolithiasis. *PLoS One.* 2014;9(10):1–6.
15. Grases F, Costa-Bauzá A, Ramis M, Montesinos V, Conte A. Simple classification of renal calculi closely related to their micromorphology and etiology. *Clim Chim Acta.* 2002; 322(1–2):29–36.

16. Penido MG, Tavares M de S. Pediatric primary urolithiasis: symptoms, medical management and prevention strategies. *World J Nephrol.* 2015;4(4):444–454.
17. García Nieto VM, Pérez Bastida XI, Salvador Cañibano M, García Rodríguez VE, Monge Zamorano M, Luis Yanes MI. Cuantificación del riesgo de formación de cálculos cálcicos en la orina correspondiente a 2 momentos del día en un grupo de niños estudiados para descartar prelitiasis. *Nefrología.* 2018;38(3):267–672.
18. Kiela PR, Ghishan FK. Physiology of intestinal absorption and secretion. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2016;30:145–159.
19. Carracedo J, Ramírez R. Fisiología Renal. *Nefrol al día.* 2020;20:1–20.
20. Blaine J, Chonchol M, Levi M. Renal control of calcium, phosphate, and magnesium homeostasis. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2015;10(7):1257–1272.
21. Kher K, Mistry K. Assessment of glomerular and tubular function. *Curr Pediatr Rev.* 2014;10(2):142–150.
22. Negri AL. Rol de las claudinas en el manejo renal del calcio. *Nefrología.* 2015;35(4):347–352.
23. Giménez-Mascarell P, Schirmacher CE, Martínez-Cruz LA, Müller D. Novel aspects of renal magnesium homeostasis. *Front Pediatr.* 2018;6:1-13.
24. Restrepo-Giraldo LM, Arévalo-Novoa J, Toro-Ramos M. Metabolismo mineral y óseo: visión general y sus métodos de medición. *Med y Lab.* 2015;21(11–12):511–538.
25. Reyes García R, Rozas Moreno P, Muñoz-Torres M. Regulación del proceso de remodelado óseo. *Rev Esp Enfermedades Metab Oseas.* 2008;17(1):10–14.
26. Szulc P. Bone turnover: biology and assessment tools. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2018;32(5):725–38.
27. Wang CJ, Grantham JJ, Wetmore JB. The medicinal use of water in renal disease. *Kidney Int.* 2013;84(1):1–9.
28. Yuan FL, Xu MH, Li X, Xinlong H, Fang W, Dong J. The roles of acidosis in osteoclast biology. *Front Physiol.* 2016;7:1-8. doi: doi.org/10.3389/fphys.2016.00222.
29. Schwaderer AL, Cronin R, Mahan JD, Bates CM. Low bone density in children with hypercalciuria and/or nephrolithiasis. *Pediatr Nephrol.* 2008;23(12):2209–2214.
30. Moreira Guimarães Penido MG, De Sousa Tavares M, Campos Linhares M, Silva Barbosa AC, Cunha M. Longitudinal study of bone mineral density in children with idiopathic hypercalciuria. *Pediatr Nephrol.* 2012;27(1):123–130.

31. Remer T. Influence of nutrition on acid-base balance - Metabolic aspects. *Eur J Nutr.* 2001;40(5):214–220.
32. Wagner CA, Mohebbi N. Urinary pH and stone formation. *J Nephrol.* 2010;23(16):165–170
33. Srivastava T, Alon US. Pathophysiology of hypercalciuria in children. *Pediatric Nephrology.* 2007;22:1659–1673.
34. Srivastava T, Schwaderer A. Diagnosis and management of hypercalciuria in children. *Curr Opin Pediatr.* 2009;21:214–219.
35. Wagner CA, Rubio-Aliaga I, Hernando N. Renal phosphate handling and inherited disorders of phosphate reabsorption: an update. *Pediatr Nephrol.* 2019;34:549–559.
36. Prié D, Ureña Torres P, Friedlander G. Latest findings in phosphate homeostasis. *Kidney Int.* 2009;75(9):882–888.
37. Curry JN, Yu ASL. Magnesium handling in the kidney. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2018;25(3):236–243.
38. Hamm LL. Renal handling of citrate. *Kidney Int.* 1990;38(4):728–735.
39. Zuckerman JM, Assimos DG. Hypocitraturia: pathophysiology and medical management. *Rev Urol.* 2009;11(3):134–144.
40. Holmes RP, Goodman HO, Assimos DG. Contribution of dietary oxalate to urinary oxalate excretion. *Kidney Int.* 2001;59(1):270–276.
41. Crivelli JJ, Mitchell T, Knight J, Wood KD, Assimos DG, Holmes RP, et al. Contribution of dietary oxalate and oxalate precursors to urinary oxalate excretion. *Nutrients.* 2021;13(1):1–13.
42. Robertson WG, Hughes H, Nakagawa Y, Menon M, Hesse A, Khan SH. Importance of mild hyperoxaluria in the pathogenesis of urolithiasis - New evidence from studies in the Arabian Peninsula. *Scanning Microsc.* 1993;7(1):391–402.
43. Asplin JR. The management of patients with enteric hyperoxaluria. *Urolithiasis.* 2016;44(1):33–43.
44. Allison MJ, Littledike ET, James LF. Changes in ruminal oxalate degradation rates associated with adaptation to oxalate ingestion. *J Anim Sci.* 1977;45(5):1173–1179.
45. Huang Y, Zhang YH, Chi ZP, Huang R, Huang H, Liu GY, et al. The handling of oxalate in the body and the origin of oxalate in calcium oxalate stones. *Urol Int.* 2020;104(3–4):167–176.
46. Maalouf NM. Metabolic syndrome and the genesis of uric acid stones. *J Ren Nutr.* 2011;21(1):128–131.

47. Enomoto A, Kimura H, Chairoungdua A, Shigeta Y, Jutabha P, Cha SH. Molecular identification of a renal urate anion exchanger that regulates blood urate levels. *Nature*. 2002;417(6887):447–452.
48. Murayama T, Sakai N, Yamada T, Takano T. Role of the diurnal variation of urinary pH and urinary calcium in urolithiasis: A study in outpatients. *Int J Urol*. 2001;8(10):525–531.
49. DiVasta AD, Feldman HA, Quach AE, Balestrino M, Gordon CM. The effect of bed rest on bone turnover in young women hospitalized for anorexia nervosa: A pilot study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009; 94(5):1650–5.
50. Atance EP, Cano EM, Sánchez MLL, Muñoz-Rodríguez JR, González AR, Peco CM. Functional capacity, bone mineral density and neoformation-resorption bone markers in patients under 18 years of age with reduced mobility. *Rev Chil Pediatr*. 2020;91(2):209–215.
51. Stow LR, Gumz ML. The circadian clock in the kidney. *J Am Soc Nephrol*. 2011;22(4):598–604.
52. Jermaine J, Pollock D. Circadian regulation of renal function. *Free Radical Biol Med*. 2018;119 (93-107).
53. Firsov D, Bonny O. Circadian regulation of renal function. *Kidney Int*. 2010;78(7):640–5. doi:10.1038/ki.2010.227.
54. Gamble KL, Berry R, Frank SJ, Young ME. Circadian clock control of endocrine factors. *Nat Rev Endocrinol*. 2014;10(8):466–475.
55. Koopman MG, Koomen GCM, Krediet RT, de Moor EAM, Hoek FJ, Arisz L. Circadian rhythm of glomerular filtration rate in normal individuals. *Clin Sci*. 1989;77(1):105–111.
56. Rohman MS, Emoto N, Nonaka H, Okura R, Nishimura M, Yagita K, et al. Circadian clock genes directly regulate expression of the Na⁺/H⁺ exchanger NHE3 in the kidney. *Kidney Int*. 2005;67(4):1410–1409.
57. Schmitt CP, Hömme M, Schaefer F. Structural organization and biological relevance of oscillatory parathyroid hormone secretion. *Pediatr Nephrol*. 2005;20(3):346–351.
58. Jones KS, Redmond J, Fulford AJ, Jarjou L, Zhou B, Prentice A. Diurnal rhythms of vitamin D binding protein and total and free vitamin D metabolites. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2017;172(6):130–135. doi:10.1016/j.jsbmb.2017.07.015.
59. Gamble KL, Berry R, Frank SJ, Young ME. Circadian clock control of endocrine factors. *Nat Rev Endocrinol*. 2014;10(8):466–475.

60. Takarada T, Cheng X, Hirochi O, Nazakato R, Yamada D, Nakamura I. Bone resorption is regulated by circadian clock in osteoblasts. *J Bone and Mineral Res.* 2017; 32(4):872-881. doi: 10.1002/jbmr.3053.
61. Harada S, Rodan GA. Control of osteoblast function and regulation of bone mass. *Nat Med.* 2003;423 (6937): 449-355.
62. Swanson C, Kohrt W, Buxton O, Everson C, Wright K, Orwoll ES. The importance of the circadian system & sleep for bone health. *Metabolism.* 2018;84:28-43.
63. Pearle MS, Goldfarb DS, Assimos DG, Curhan G, Denu-Ciocca CJ, Matlaga BR. Medical management of kidney stones: AUA guideline. *J Urol.* 2014;192(2):316-324.
64. Grases F, Rodriguez A, Costa-Bauza A. Efficacy of mixtures of magnesium, citrate and phytate as calcium oxalate crystallization inhibitors in urine. *J Urol.* 2015;194(3):812-9.
65. Curhan GC, Willett WC, Speizer FE, Stampfer MJ. Twenty-four-hour urine chemistries and the risk of kidney stones among women and men. *Kidney Int.* 2001;59(6):2290-2298.
66. Worcester EM, Coe FL. New insights into the pathogenesis of idiopathic hypercalciuria. *Semin Nephrol.* 2008;28(2):120-132.
67. Escribano J, Balaguer A, M RF, Feliu A, Ferre N. Dietary interventions for preventing complications in idiopathic hypercalciuria (Review). *Cochrane Rev.* 2014;(2): CD006022.
68. Williams CP, Child DF, Hudson PR, De Soysa L, Davies GK, Davies MG. Inappropriate phosphate excretion in idiopathic hypercalciuria: the key to a common cause and future treatment? *J Clin Pathol.* 1996;49(11):881-888.
69. Prié D, Ravery V, Boccon-Gibod L, Friedlander G. Frequency of renal phosphate leak among patients with calcium nephrolithiasis. *Kidney Int.* 2001;60(1):272-276.
70. Pak CY, Sakhaee K, Peterson RD, Poindexter JR, Frawley WH. Biochemical profile of idiopathic uric acid nephrolithiasis. *Kidney Int.* 2001;60(2):757-761.
71. Arrabal-Polo MA, Arrabal-Martin M, Arias-Santiago S, Garrido-Gomez J, Poyatos-Andujar A, Zuluaga-Gomez A. Importance of citrate and the calcium: Citrate ratio in patients with calcium renal lithiasis and severe lithogenesis. *BJU Int.* 2013;111(4):622-627.
72. Kovacevic L, Wolfe-Christensen C, Edwards L, Sadaps M, Lakshmanan Y. From hypercalciuria to hypocitraturia - A shifting trend in pediatric urolithiasis? *J Urol.* 2012;188(4):1623-1627.

73. Kurtz MP, Eisner BH. Dietary therapy for patients with hypocitraturic nephrolithiasis. *Nat Rev Urol*; 2011;8:146–152.
74. Borghi L, Meschi T, Amato F, Briganti A, Novarini A, Giannini A. Urinary volume, water and recurrences in idiopathic calcium nephrolithiasis: A 5-year randomized prospective study. *J Urol*. 1996;155(3):839–843.
75. Rodriguez A, Cunha T da S, Rodgers AL, Gambaro G, Ferraro PM. Comparison of supersaturation outputs from different programs and their application in testing correspondence with kidney stone composition. *J Endourol*. 2021;35(5):687–694.
76. Grases F, García-Ferragut L, Costa-Bauzá A, Conte A, García-Raja A. Simple test to evaluate the risk of urinary calcium stone formation. *Clin Chim Acta*. 1997;263(1):43–55.
77. Chan KH, Moser EA, Whittam BM, Misseri R, Cain MP, Krambeck A. The ability of a limited metabolic assessment to identify pediatric stone formers with metabolic abnormalities. *J Pediatr Urol*. 2018;14(4):331.e1-331.e6. doi: 10.1016/j.jpuro.2018.08.005.
78. Rodriguez A, Saez-Torres C, Mir C, Casasayas P, Rodriguez N, Rodrigo D, Frontera G, J Buades, Gómez C, Costa-Bauzá A, Grases F. Effect of sample time on urinary lithogenic risk indexes in healthy and stone-forming adults and children. *BMC Urol*. 2018;18(1):116.
79. Srivastava T, Winston MJ, Auron A, Alon US. Urine calcium/citrate ratio in children with hypercalciuric stones. *Pediatr Res*. 2009;66(1):85–90.
80. Castle SM, Cooperberg MR, Sadetsky N, Eisner BH, Stoller ML. Adequacy of a single 24-hour urine collection for metabolic evaluation of recurrent nephrolithiasis. *J Urol*. 2010;184(2):579–583.
81. Ahlstrand C, Larsson L, Tiselius HG. Variations in urine composition during the day in patients with calcium oxalate stone disease. *J Urol*. 1984;131(1):77–81.
82. Lumbreras J, Morales LJ. Estudio metabólico urinario para el diagnóstico y seguimiento de la litiasis renal en pacientes pediátricos. *Rev Esp Pediatr Clin Invest*. 2020; 75(1):5-24.
83. Bevill M, Kattula A, Cooper CS, Storm DW. The modern metabolic stone evaluation in children. *Urology*. 2017;101:15–20.
84. Wu W, Yang D, Tiselius HG, Ou L, Mai Z, Chen K. Collection and storage of urine specimens for measurement of urolithiasis risk factors. *Urology*. 2015;85(2):299–303.
85. Penniston KL, Nakada SY. Updates in the metabolic management of calcium stones. *Curr Urol Rep*. 2018;19(6):41.

86. DeFoor W, Minevich E, Jackson E, Reddy P, Clark C, Sheldon C. Urinary metabolic evaluations in solitary and recurrent stone forming children. *J Urol*. 2008;179(6):2369–2372.
87. Parks JH, Goldfisher E, Asplin JR, Coe FL. A single 24-Hour urine collection is inadequate for the medical evaluation of nephrolithiasis. *J Urol*. 2002;167(4):1607–1612.
88. Areses R, Urbietta MA, Ubetagoyena M, Mingo T, Arruebarrena D. Evaluación de la enfermedad renal litiásica. Estudio metabólico. *An Pediatr*. 2004;61(5):418–427.
89. Remer T, Neubert A, Maser-Gluth C. Anthropometry-based reference values for 24-h urinary creatinine excretion during growth and their use in endocrine and nutritional research. *Am J Clin Nutr*. 2002;75(3):561–569.
90. Hinck BD, Ganesan V, Tarplin S, Asplin J, Granja I, Calle J. Can a simplified 12-hour nighttime urine collection predict urinary stone risk? *Urology*. 2017;108:40–45.
91. Alruwaily AF, Dauw CA, Bierlein MJ, Yan P, Asplin JR, Ghani KR. How much information is lost when you only collect one 24-hour urine sample during the initial metabolic evaluation? *J Urol*. 2017;196(4):1143–1148.
92. Hong YH, Dublin N, Razack AH, Mohd MA, Husain R. Twenty-four hour and spot urine metabolic evaluations: Correlations versus agreements. *Urology*. 2010;75(6):1294–1298.
93. García Nieto VM, Luis Yanes MI, Arango Sancho P. Basic renal function tests reviewed. Is the 24hour urine collection on the decline in paediatrics? *AnPediatr*. 2014;80(5):275–7.
94. Butani L, Kalia A. Idiopathic hypercalciuria in children - How valid are the existing diagnostic criteria? *Pediatr Nephrol*. 2004;19(6):577–582.
95. Porowski T, Kirejczyk JK, Zoch-Zwierz W, Konstantynowicz J, Korzeniecka-Kozerska A, Motkowski R. Assessment of lithogenic risk in children based on a morning spot urine sample. *Int Braz J Urol*. 2011;37(4):556–556.
96. Porowski T, Kirejczyk JK, Konstantynowicz J, Kazberuk A, Plonski G, Wasilewska A. Correspondence between Ca²⁺ and calciuria, citrate level and pH of urine in pediatric urolithiasis. *Pediatr Nephrol*. 2013;28(7):1079–1084.
97. Leung AKC, Wong AHC, Barg SSN. Proteinuria in children: Evaluation and differential diagnosis. *Am Fam Physician*. 2017;95(4):248–254.
98. Robert M, Roux JO, Bourelly F, Boularan AM, Guiter J, Monnier L. Circadian variations in the risk of urinary calcium oxalate stone formation. *Br J Urol*. 1994;74(3):294–297.

99. McGuire BB, Bhanji Y, Sharma V, Frainey BT, McClean M, Dong C. Predicting patients with inadequate 24- or 48-hour urine collections at time of metabolic stone evaluation. *J Endourol.* 2015;29(6):730–735.
100. Rodrigo Jiménez MD, Sáez-Torres MC, Lumbreras Fernández J. Litiasis renal y nefrocalcinosis. En: García JJ, Cruz O, Mintegui S MJM, editor. *Manual de Pediatría de Cruz.* 4a. Madrid: Ergon; 2019. p. 1186–1890.
101. Arrabal-Polo MA, Arrabal-Martin M, Garrido-Gomez J. Litiasis renal cálcica: diagnóstico metabólico y tratamiento médico. *Sao Paulo Med J.* 2013;131:46–53.
102. Forni Ognà V, Ognà A, Vuistiner P, Pruijm M, Ponte B, Ackermann D. New anthropometry-based age- and sex-specific reference values for urinary 24-hour creatinine excretion based on the adult Swiss population. *BMC Med.* 2015;13:40.
103. Lumbreras Fernández J. Aportes a la investigación en Litiasis renal infantil. [Tesis doctoral]. Palma de Mallorca. Universitat de les Illes Balears; 2020.
104. Anandaram PS, De Bolla AR, Hudson PR, Davies GK, Majumdar P, Williams CP. Problems in the metabolic evaluation of renal stone disease: Audit of intra-individual variation in urine metabolites. *Urol Res.* 2006;34(4):249–254.
105. Skolarikos A, Straub M, Knoll T, Sarica K, Seitz C, Petk A. Metabolic evaluation and recurrence prevention for urinary stone patients: EAU guidelines. *Eur Urol.* 2015;67(4):750–763.
106. Grases F, Rodriguez A, Costa-Bauza A, Saez-Torres C, Rodrigo D, Gómez C, Mir-Perello, C, Frontera G. Factors associated with the lower prevalence of nephrolithiasis in children compared with adults. *Urol.* 2015;86(3):587–592.
107. Lurbe E, Agabiti-Rosei E, Cruickshank JK, Dominiczak A, Erdine S, Hirth A. European Society of Hypertension guidelines for the management of high blood pressure in children and adolescents. *J Hypertens.* 2016;34(10):1887-1920.
108. Bowles NP, Thosar SS, Herzig MX, Shea SA. Chronotherapy for Hypertension. *Curr Hypertens Rep.* 2018;20(11):1–37.
109. Thoonkuzhy C, Rahman M. New insights on chronotherapy in hypertension: is timing everything? *Curr Hypertens Rep.* 2020;22(4). doi:10.1007/s11906-020-1032-x.
110. Ferraro PM, Bargagli M, Trinchieri A, Gambaro G. Risk of kidney stones: influence of dietary factors, dietary patterns, and vegetarian–vegan diets. *Nutrients.* 2020;12:1-16.
111. Miller LA, Stapleton FB. Urinary volume in children with urolithiasis. *J Urol.* 1989;141(4 D):918–920.
112. Tiselius H-G. Aspects on estimation of the risk of calcium oxalate crystallization in urine. *Urol Int.* 1991;47(4):255–229.

113. Lande M, Varade W, Erkan E, Niederbracht Y, Schwartz G. Role of urinary supersaturation in the evaluation of children with urolithiasis. *Pediatr Nephrol.* 2004;20:491-494.
114. Tasian GE, Copelovitch L. Evaluation and medical management of kidney stones in children. *J Urol.* 2014;192(5):1329–1336.
115. Sáez-Torres C, Grases F, Rodrigo D, García-Raja AM, Gómez C, Frontera G. Risk factors for urinary stones in healthy schoolchildren with and without a family history of nephrolithiasis. *Pediatr Nephrol.* 2013;28(4):639–645.
116. Mir Perelló, C, Sáez-Torres Barroso, C, Rodrigo Jiménez, D, Rodríguez Rodríguez, A, Lumbreras Fernández, J, Frontera Juan, G, Grases Freixedas F. Relación entre la percepción del consumo oral de líquidos y el volumen urinario en población sana. *Pediatr Aten Primaria.* 2017;19(75):223–229.
117. Tiselius HG. Risk formulas in calcium oxalate urolithiasis. *World J Urol.* 1997;15:176–185.
118. Cameron MA, Baker LA, Maalouf NM, Moe OW, Sakhaee K. Circadian variation in urine pH and uric acid nephrolithiasis risk. *Nephrol Dial Transplant.* 2007;22(8):2375–2378.
119. Boari B, Salmi R, Rizzioli E, Manfredini R. Circadian variation in urine pH and uric acid nephrolithiasis risk. *Nephrol Dial Transplant.* 2008;23(1):411–412.
120. Touitou Y, Auzéby A, Camus F, Djeridane Y. Twenty-four-hour profiles of urinary excretion of calcium, magnesium, phosphorus, urea, and creatinine in healthy prepubertal boys. *Clin Biochem.* 2010;43(1–2):102–105.
121. Topal C, Algun E, Sayarlioglu H, Erkoc R, Soyoral Y, Dogan E. Diurnal rhythm of urinary calcium excretion in adults. *Ren Fail.* 2008;30(5):499–501.
122. Briscoe AM, Ragan C. Diurnal variations in calcium and magnesium excretion in man. *Metabolism.* 1966;15(11):1002–1010.
123. Touitou Y, Touitou C, Charransol G, Reinberg A, Thomas J, Bodgan A, Barthelemy C, Desgrez P. Alterations in circadian rhythmicity in calcium oxalate renal stone formers. *Inter J Chronobiol.* 1983;8(3):175-192.
124. Rodrigo Jimenez MD. Variantes alélicas del receptor de la vitamina D y densidad mineral ósea en niños diagnosticados de hipercalciuria idiopática. [Tesis doctoral]. Tenerife. Universidad de La Laguna; 2003.
125. Kemp GJ, Blumsohn A, Morris BW. Circadian changes in plasma phosphate concentration, urinary phosphate excretion, and cellular phosphate shifts. *Clin Chem.* 1992;38(3):400–402.

126. Wagner C, Rubio-Aliaga I, Hernando N. Renal phosphate handling and inherited disorders of phosphate reabsorption: an update. *Pediatr Nephrol*. 2017;34(4):1–11.
127. Tiselius HG. Should we modify the principles of risk evaluation and recurrence preventive treatment of patients with calcium oxalate stone disease in view of the etiologic importance of calcium phosphate? *Urolithiasis*. 2014;43(1):47–57.
128. Kanabrocki EL, Sothorn RB, Ryan MD, Kahn S, Augustine G, Johnson C. Circadian characteristics of serum calcium, magnesium and eight trace elements and of their metallo-moieties in urine of healthy middle-aged men. *Clin Ter*;159(5):329–346.
129. Leis R, Moreno JM, Varela-Moreiras G, Gil A. Estudio Nutricional en Población Infantil de España (EsNuPI). *Nutr Hosp*. 2020;3(2):3-7.
130. Rude R, Singer F, Gruber H. Skeletal and hormonal effects of magnesium deficiency. *J Am Col Nutr*. 2009; 28(2):131–134.
131. Chai W, Liebman M, Kynast-Gales S, Massey L. Oxalate absorption and endogenous oxalate synthesis from ascorbate in calcium oxalate stone formers and non-stone formers. *Am J Kidney Dis*. 2004;44(6):1060–1069.
132. Kumar P, Patel M, Thomas V, Knight J, Holmes R, Tanecia Mitchell T. Dietary oxalate induces urinary nanocrystals in humans. *Kidney Int Rep*. 2020;5(7): 1040-1051.
133. Fargue S, Milliner DS, Knight J, Olson JB, Lowther WT, Holmes RP. Hydroxyproline metabolism and oxalate synthesis in primary hyperoxaluria. *J Am Soc of Nephrol*. 2018;29:1615–1623.
134. Hoppe B, Beck BB, Milliner DS. The primary hyperoxalurias. 2009. *Kidney Int*. 75(12):1264-1271.
135. Sikora P, von Unruh G, Beck B, Feldkötter M, Zajączkowska M, Hesse A, B. Hoppe B. [13C2]oxalate absorption in children with idiopathic calcium oxalate urolithiasis or primary hyperoxaluria. *Kidney Int*. 2008;73(10): 1181-1186.
136. Voigt RM, Forsyth CB, Green SJ, Engen PA, Keshavarzian A. Circadian rhythm and the gut microbiome. *Int Rev Neurobiol*. 2016;131(1) 193–205.
137. Matenchuk BA, Mandhane PJ, Kozyrskyj AL. Sleep, circadian rhythm, and gut microbiota. *Sleep Med Rev*. 2020;53: e1957407.
138. Rodgers A. Aspects of calcium oxalate crystallization: theory, in vitro studies, and in vivo implementation. *J Am Soc Nephrol*. 1999;10 (14):351-354.
139. Öner A, Erdogan Ö, Çamurdanoglu D, Demircin G, Bülbül M, Delibas A. Reference values for urinary calcium and uric acid excretion in healthy Turkish children. *Int Pediatr*. 2004;19(3):154–157.
140. Nielsen TT, Sørensen NS. Daily plasma citrate rhythms in man during feeding and

- fasting. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. 1981; 41(3) 281-287.
141. Chen H, Wang Y, Dai H, Tian X, Cui ZK, Chen Z, Hu L, Song Q, Liu A, Zhang Z, Xiao G, Yang J, Jiang Y, Bai X. Bone and plasma citrate is reduced in osteoporosis. *Bone*. 2018 114(9):189-197.
142. Tiselius HG, Berg C, Fornander AM, Nilsson MA, Robertson WG, Hesse A. Effects of citrate on the different phases of calcium oxalate crystallization. *Scanning Microsc*. 1993;7(1):381–390.
143. Coe FL, Evan A, Worcester E. Science in medicine Kidney stone disease. *J Clin Investig*. 2005;115(10):2598–2608.
144. Sáez-Torres C, Rodrigo D, Grases F, García-Raja AM, Gómez C, Lumbreras J, Frontera G. Urinary excretion of calcium, magnesium, phosphate, citrate, oxalate, and uric acid by healthy schoolchildren using a 12-h collection protocol. *Pediatr Nephrol*. 2014;29(7):1201–1218.
145. Edvardsson VO, Ingvarsdottir SE, Palsson R, Indridason OS. Incidence of kidney stone disease in Icelandic children and adolescents from 1985 to 2013: results of a nationwide study. 2018;33(8):1375-1384.
146. Ennis JL, Asplin JR. The role of the 24-h urine collection in the management of nephrolithiasis. *Int J Surg*. 2016;36:633–637.
147. Chertin B. 24 h urine collection is essential in nephrolithiasis evaluation. *Nat Rev Urol*. 2014;11:552-553.
148. Choi IS, Jung ES, Choi YE, Cho YK, Yang EM, Kim CJ. Random urinary calcium/creatinine ratio for screening hypercalciuria in children with hematuria. *Ann Lab Med*. 2013;33(6):401–405.
149. Matos V, Van Melle G, Werner D, Bardy D, Guignard JP. Urinary oxalate and urate to creatinine ratios in a healthy pediatric population. *Am J Kidney Dis*. 1999;34(2):e1.
150. Gökçe Ç, Gökçe Ö, Baydınç C, İlhan N, Alaşehirli E, Özküçük F, et al. Use of random urine samples to estimate total urinary calcium and phosphate excretion. *Arch Intern Med*. 1991;151(8):1587–1588.
151. Matsushita K, Tanikawa K. Significance of the calcium to creatinine concentration ratio of a single-voided urine specimen in patients with hypercalciuric urolithiasis. *Tokai J Exp Clin Med*. 1987;12(3):167–171.
152. Türk C, Knoll T, Petrik a, Sarica K, Skolarikos a, Straub M. Pocket Guidelines on urolithiasis. *Eur Urol*. 2014;40(4):362–371.
153. Baumann JM, Affolter B. From crystalluria to kidney stones, some physicochemical

- aspects of calcium nephrolithiasis. *World J Nephrol.* 2014;3(4):256–267.
154. Sikora P, Zajaczkowska M, Hoppe B. Assessment of crystallization risk formulas in pediatric calcium stone-formers. *Pediatr Nephrol.* 2009;24(10):1997–2003.
155. Leumann EP, Dietl A, Matasovic A. Urinary oxalate and glycolate excretion in healthy infants and children. *Pediatr Nephrol.* 1990;4(5):493–497.
156. Matos V, Van Melle G, Boulat O, Markert M, Bachmann C, Guignard JP. Urinary phosphate/creatinine, calcium/creatinine, and magnesium/creatinine ratios in a healthy pediatric population. *J Pediatr* 1997;131(2):252-257.
157. De Santo N, Di Iorio B, Capasso G, Paduano C, Stamler R, Langman C. Population based data on urinary excretion of calcium, magnesium, oxalate, phosphate and uric acid in children from Cimitile (southern Italy). *Pediatr Nephrol.*1992;6:149-157.
158. Hernández R, Nuñez F, Martínez C, Fons J, Peris A, Brines J. Urinary excretion of calcium, magnesium, uric acid and oxalic acid in normal children. *An Esp Pediatr.* 1988;29(2):99–104.
159. Melián JS, García Nieto V, Sosa AM. Herencia y prevalencia de hipercalcemia en la población infantil de la isla de La Gomera. *Nefrología* 2000;20(6):510-516
160. Areses R, Emparanza J, Arriola M, Urbieto MA. Estudio Haurtxo. Valores de referencia de la calcemia y de la calciuria en nuestra población infantil normal. Calcio en la infancia. *Nefrología.* 1994;14(5):581-590.
161. Safarinejad MR. Urinary mineral excretion in healthy Iranian children. *Pediatr Nephrol.* 2002;18(2):140–144.

ANEXOS

9. ANEXOS

Anexo I. Información para el paciente y consentimientos informados

HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE PARA LA RECOGIDA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

TÍTULO DEL ESTUDIO: Utilidad de la muestra de orina de 12 horas nocturna para la evaluación de los parámetros urinarios relacionados con la litiasis renal

CÓDIGO DEL ESTUDIO: LIT-03-16

CENTRO: IUNICS.

Nos dirigimos a usted para solicitar su consentimiento para la obtención y utilización de muestras biológicas con fines de investigación biomédica. El estudio ha sido aprobado por el Comité de Ética de Investigación de las Illes Balears, de acuerdo a la legislación vigente, y se lleva a cabo con respeto a los principios enunciados en la declaración del Helsinki y a las normas de buena práctica clínica. Nuestra intención es tan solo que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este estudio. Para ello lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir. Además, puede consultar con las personas que considere oportuno. Si tiene alguna duda diríjase a (nombre investigador).....

PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar o cambiar su decisión y retirar el consentimiento para la utilización de la muestra en cualquier momento sin dar explicaciones, así como solicitar la destrucción. Si usted decide revocar su consentimiento, no se realizarán nuevos análisis de la muestra, pero esta revocación no afectará a las investigaciones realizadas hasta el momento.

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO:

La litiasis renal, también conocida como "piedras del riñón", es una enfermedad cada vez más frecuente. Se calcula que una de cada diez personas la sufrirá en algún momento de su vida. Ello aumenta el interés por conocer mejor la enfermedad, prevenir su aparición y/o mejorar su tratamiento. Antes de formarse la piedra de riñón se han producido unos cambios en la orina que pueden ser detectados y tratados. En nuestra orina existen una gran cantidad de sustancias disueltas que, según su cantidad y proporción, pueden juntarse entre sí y dar lugar a la formación de arenillas. Estas arenillas por sí solas ya pueden dar problemas como incontinencia urinaria, infecciones de orina, dolores abdominales e incluso cólicos nefríticos. La alimentación es un factor importante como causa de esta enfermedad ya que influye en la composición de la orina y, posiblemente con unos simples cambios en la dieta se pueden prevenir en muchos casos la aparición de los cálculos.

Por otro lado, las pruebas que se realizan habitualmente para los estudios de litiasis renal incluyen el análisis de orina de 24 horas. Este tipo de muestra es muy difícil de recoger porque interfiere mucho con la actividad diaria. Por ello se hace necesario encontrar un método de analizar la orina que resulte más sencillo como es utilizar sólo la orina del final de la tarde y de la noche. Ahora bien, antes de validar su uso, se deben realizar estudios de comparación de resultados de esta muestra con los de la muestra de orina habitual de 24 horas. El trabajo que estamos realizando de forma coordinada el IUNICS-IdISPa, el Hospital Universitari Son Espases y el Hospital de Son Llàtzer, con el apoyo del Govern de les Illes Balears tiene como propósito estudiar la utilidad de la muestra de orina de 12 horas de la noche para evaluar el riesgo de litiasis y el papel de la dieta en esta enfermedad. Si accede a participar en este estudio se le entregarán dos botes para que usted pueda recoger las muestras de orina en el domicilio. En la orina únicamente se harán las determinaciones de sustancias relacionadas con el riesgo de formar cálculos. El personal investigador se desplazará para recoger los botes que luego analizaremos en el laboratorio de Investigación en Litiasis Renal de la UIB y en el Hospital Universitari Son Espases. Asimismo, se recogerá información sobre alimentación. No es necesario sacar muestras de sangre en ningún momento del estudio. Al término de la investigación la muestra será destruida

BENEFICIOS Y RIESGOS DERIVADOS DE SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO

Los resultados del estudio podrán tener en algunos casos un beneficio directo para los participantes, puesto que está previsto comunicar los resultados a aquellas personas que muestren alteraciones sugestivas de riesgo aumentado de desarrollar cálculos. Por otro lado, el hecho de conocer qué tipo de hábito nutricional se asocia con el riesgo litógeno, nos permitiría abordar en el futuro una estrategia de prevención de los mismos basada en la educación nutricional.

Su participación en el estudio no le supondrá ningún gasto

CONFIDENCIALIDAD

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal, y en cumplimiento del RD 1720/07. De acuerdo a lo que establece la legislación mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual deberá dirigirse al equipo investigador. Sus datos serán tratados informáticamente y se incorporarán a un fichero automatizado de datos de carácter personal cuyo responsable es Concepción Sáez-Torres Barroso, que ha sido registrado en la Agencia Española de Protección de Datos. Sus datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código y solo los investigadores podrán relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica. Por lo tanto, su identidad no será revelada a persona alguna salvo en caso de urgencia médica, requerimiento de la administración sanitaria o requerimiento legal. Sólo se transmitirán a terceros y a otros países, previa notificación a la Agencia Española de Protección de Datos, los datos recogidos para el estudio que en ningún caso contendrán información que le pueda identificar directamente, como nombre y apellidos, iniciales, dirección, nº de la seguridad social, etc. En el caso de que se produzca esta cesión, será para los mismos fines del estudio descrito y garantizando la confidencialidad como mínimo con el nivel de protección de la legislación vigente en nuestro país. El acceso a su información personal quedará restringido al médico del estudio/colaboradores, autoridades sanitarias, al Comité de Ética de la Investigación de las Illes Balears y personal autorizado, cuando lo precisen para comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos de acuerdo a la legislación vigente.

INSTRUCCIONES RECOGIDA DE ORINA DE 24 H EN DOS FRACCIONES DE 12 H

IMPORTANTE: no cambiar hábitos de comida y bebida respecto a lo que haría normalmente.

Le daremos dos botes, rotulados como Bote 1 y Bote2. Los botes contienen un conservante (timol) que puede ser causa de que note un olor especial al abrirlo.

BOTE 1: ORINA DEL DÍA

- **Domingo a las 8h:** Inmediatamente al levantarse, orinar en el váter (**NO en el bote**).
- **ANOTAR Hora a la que se ha levantado** en la hoja del registro de la dieta.
- **A partir de entonces** recoger todas las orinas en el bote nº 1 hasta las 20h. Es **muy importante** que realice una micción en este bote **a las 20h (las 8 de la tarde)**.
- Cerrar el bote definitivamente

BOTE 2: ORINA DE LA NOCHE

A partir de entonces recoger todas las orinas en el bote 2 hasta la mañana siguiente (a las 8h) **antes del desayuno**. Recordar que, en este caso, la primera micción al levantarse (lunes por la mañana) **SÍ se debe incluir** en el bote nº2 (será la última de este bote).

- En resumen, este bote contendrá entonces la orina de:
 - ✓ final de la tarde y noche antes de acostarse
 - ✓ durante la noche si se levanta
 - ✓ y la primera de la mañana al levantarse **antes del desayuno**

Conservar los botes en sitio fresco, lejos de la exposición del sol.

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA UTILIZACIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS (TUTOR DEL PARTICIPANTE MENOR DE EDAD)

Título: Utilidad de la muestra de orina de 12 horas nocturna para la evaluación de los parámetros urinarios relacionados con la litiasis renal

Código del Estudio: LIT-03-16

Yo (nombre y apellidos).....en calidad de.....(relación con el participante) de.....(nombre y apellidos del participante)

- He leído la hoja de información que se me ha entregado.
- He podido hacer preguntas sobre el estudio.
- He recibido suficiente información sobre el estudio.
- He hablado con:(nombre del investigador)
- Comprendo que la participación del menor es voluntaria.
- Comprendo que puede retirarse del estudio y solicitar la destrucción de su muestra:

1º Cuando quiera

2º Sin tener que dar explicaciones.

3º Sin que esto repercuta en sus cuidados médicos.

- Comprendo que si decidimos retirarnos del estudio los resultados obtenidos hasta ese momento podrán seguir siendo utilizados pero que no se realizarán nuevos análisis de la muestra.
- Comprendo que como representante, tengo los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición a los datos de carácter personal de acuerdo con lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999 de protección de datos de carácter personal.
- En mi presencia se ha dado a(nombre del participante) toda la información pertinente adaptada a su nivel de entendimiento y está de acuerdo en participar. Presto mi conformidad para que participe en este estudio y doy mi consentimiento para el acceso y utilización de los datos en las condiciones detalladas en la hoja de información.

Al término de la investigación, la muestra será:

- Destruída

Firma del representante:

Firma del investigador:

DOCUMENTO DE ASENTIMIENTO PARA NIÑOS 6-11 AÑOS

Título: Utilidad de la muestra de orina de 12 horas nocturna para la evaluación de los parámetros urinarios relacionados con la litiasis renal

Código del Estudio: LIT-03-16

Yo (nombre y apellidos)

- Me he enterado de que voy a participar en un estudio y me lo han explicado
- He podido hacer todas las preguntas que he querido.
- He hablado con:(nombre del investigador)
- Sé que sólo participaré si yo quiero y si mis padres también quieren
- Sé que puedo decir que no quiero seguir participando en cualquier momento, sin que nadie se enfade conmigo.
- Comprendo que mis datos personales se protegerán de acuerdo con las leyes españolas.

- Sí quiero participar en el estudio

Firma del niño/a:

Firma del investigador:

**CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA UTILIZACIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS
(PARTICIPANTE ADULTO)**

Título: Utilidad de la muestra de orina de 12 horas nocturna para la evaluación de los parámetros urinarios relacionados con la litiasis renal

Código del Estudio: LIT-03-16

Yo (nombre y apellidos)

- He leído la hoja de información que se me ha entregado.
- He podido hacer preguntas sobre el estudio.
- He recibido suficiente información sobre el estudio.
- He hablado con:(nombre del investigador)
- Comprendo que mi participación es voluntaria.
- Comprendo que puedo retirarme del estudio y solicitar la destrucción de mi muestra:

1º Cuando quiera

2º Sin tener que dar explicaciones.

3º Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

- Comprendo que si decido retirarme del estudio los resultados obtenidos hasta ese momento podrán seguir siendo utilizados pero que no se realizarán nuevos análisis de mi muestra.
- Comprendo que tengo los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición a mis datos de carácter personal de acuerdo con lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999 de protección de datos de carácter personal.
- Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio y doy mi consentimiento para el acceso y utilización de mis datos en las condiciones detalladas en la hoja de información.

Al término de la investigación, mi muestra será:

- Destruída

Firma del participante:

Firma del investigador:

Anexo II. Cuaderno de recogida de datos

CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS

Código

SEXO Hombre Mujer

FECHA NACIMIENTO (dd/mm/aa)

PROCEDENCIA:

Pediatría HUSE

Nefrología HSL

Urología HUSE

No hospitalario

PESO (Kg)

TALLA (cm)

Estadio puberal de Tanner (pediatría) G/M P

ANTECEDENTES LITIASIS FAMILIARES

Padre Confirmado Sospecha Ninguno

Madre Confirmado Sospecha Ninguno

Hermanos Confirmado Sospecha Ninguno

ANTECEDENTES PERSONALES *(Marcar lo que proceda)*

- NEFROUROLÓGICOS:

Litiasis renal SI NO

Si litiasis Primer episodio Recurrente
 Única Múltiple

Uropatía SI NO

Enuresis SI NO

Hábito miccional Normal (entre ... y ... al día)
 Polaquiúrico (más de ... al día)
 Retentor (menos de ... al día)

ITUS SI NO

Hematuria SI NO

Tratamiento habitual o modificación dietética (especialmente para litiasis renal):

Anexo III. Publicación



Analysis of urine composition from split 24-h samples: use of 12-h overnight samples to evaluate risk factors for calcium stones in healthy and stone-forming children



^aMultidisciplinary Paediatrics Research Group (IdISBa), Son Espases University Hospital, 07020, Palma de Mallorca, Spain

^bDepartment of Paediatric Nephrology, Son Espases University Hospital, 07020, Palma de Mallorca, Spain

^cLaboratory of Renal Lithiasis Research, University Institute of Health Sciences Research (IUNICS-IdISBa), University of Balearic Islands, Ctra Valldemossa, Km 7.5, 07122, Palma de Mallorca, Spain

^dResearch Unit, Son Espases University Hospital, 07020, Palma de Mallorca, Spain

^eLaboratory Department, Son Espases University Hospital, 07020, Palma de Mallorca, Spain

* Corresponding author. Tel.: +34 971 173495. adri.statistics@gmail.com (A. Rodriguez)

Keywords
Urolithiasis; Daily variability; 12-h urine sample; Hypercalciuria; Hypocitraturia

Received 18 October 2019
Accepted 16 February 2020
Available online 22 February 2020

Concepcion Mir ^{a,b}, Adrian Rodriguez ^{c,*}, Dolores Rodrigo ^{a,b}, Concepcion Saez-Torres ^c, Guiem Frontera ^d, Javier Lumbreras ^{a,b}, Natalia Espinosa ^b, Cristina Gomez ^e, Antonia Costa-Bauza ^c, Felix Grases ^c

Summary

Introduction

The analysis of 24-h urine is the gold standard to diagnose metabolic abnormalities in the stone-forming patient. However, urinary composition changes throughout the day and analyzing the whole 24-h urine may mask peaks of increased risk of crystallization.

Objective

To examine variations of stone-promoting and stone-inhibiting factors in urine using split 24-h samples from healthy and stone-forming children.

Study design

Urine was collected from 87 healthy and 26 stone-forming children using a split collection procedure (12-h daytime urine and 12-h overnight urine). Urine volume, pH, calcium (Ca), magnesium (Mg), phosphate (P), citrate (Cit), uric acid (Ur), and oxalate (Ox) were determined, and the Ca/Cit ratio was calculated.

Results

The overnight urine samples in both groups had higher levels of P and Mg, lower volume, lower pH, and less citrate and uric acid. As can be seen in the

table, higher percentages of healthy and stone-forming children had altered 12-h night urine than 24-h urine with regards to Ca/Cr, Cit/Cr and Ca/Cit ratios. All healthy subjects and all stone-forming children (except one) with altered Cit/Cr ratios or Ca/Cit ratios in the 24-h sample also had altered ratios in the 12-h overnight sample.

Discussion

This study indicates that urine composition changes throughout the day, and that there is daily variability in most of the parameters related to kidney stone formation. Furthermore, 12-h overnight samples seem to be more sensitive than 24-h samples in detecting the most common urinary abnormalities. The main limitation of this study is the relative low sample size of stone-forming children, owing to the low prevalence of nephrolithiasis in childhood.

Conclusions

We observed a higher excretion of stone-promoting substances and a lower citrate in urine at night. However, the study results do not provide enough evidence to conclude that the use of a 12-h overnight sample collection can replace 24 h urine analysis in the metabolic evaluation of children with lithiasis.

Summary Table Number (percentage) of urine samples with Ca/Cr, Cit/Cr, and Ca/Cit above cut points of normal.

Urinary alteration	Healthy		Stone formers	
	12-h night urine	24-h urine	12-h night urine	24-h urine
Ca/Cr > 0.20 mg/mg	6/87 (6.9%)	1/87 (1.1%)	8/26 (30.8%)	10/26 (38%)
Cit/Cr < 250 mg/g	15/87 (17.2%)	4/87 (4.6%)	9/26 (34.6%)	5/26 (19.2%)
Ca/Cit > 0.33 mg/mg	22/87 (25%)	7/87 (8%)	21/26 (80.8%)	18/26 (69.2%)

<https://doi.org/10.1016/j.jpuro.2020.02.011>

1477-5131/© 2020 Journal of Pediatric Urology Company. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

Introduction

Kidney stones form because of an imbalance of promoters and inhibitors of crystallization in the urine [1,2]. Thus, most protocols recommend analysis of 24-h urine samples for assessment of stone risk factors [3,4]. However, these measurements require significant patient compliance, so collection of samples can be difficult [5–7]. Furthermore, some studies indicate that measurements of 24-h urine samples may mask concentration peaks of some solutes that occur at certain times of the day [8,9]. The calculation of solute-to-creatinine ratio in spot urine is another approach for analysis of urine composition; however, there are concerns regarding the high variability and more limited data provided by this method [5,10].

Studies of alternatives for assessment of the risk of urinary stones in children proposed the use of a 12-h overnight urine collection protocol [11]. The advantages of this method are that urine collection is easier, and sample composition is less dependent on episodic food or fluid intake than spot samples.

The general purpose of the present work is to improve interpretation of 12-h overnight urine analysis for detection of the main urinary stone risk factors. The study's specific aims were to identify variations of urine composition throughout the day by examining 12-h daytime samples, 12-h overnight samples, and 24-h samples in a healthy pediatric population and in stone-forming children.

Material and methods

Samples of 24-h urine were collected from 113 children (age 5–17 years). Eighty-seven children were healthy and recruited from primary and secondary schools, and 26 children had lithiasis and were admitted to the study's pediatric nephrology unit. Children who had a history of disorders that can affect urine chemistry (bowel disease with malabsorption, bone fracture in the last six months, active urinary tract infection, or chronic kidney disease) or were taking any medication at the time of the study (except for lithiasis treatments, such as diuretics and alkali salts) were excluded. For those receiving lithiasis treatments, the treatment was discontinued three days before urine collection. Prior approval was provided from the ethics committee (IB3152/16), and informed consent was provided by all parents.

Children were told not to change their normal diets and physical activities during the sample period, with no restrictions regarding calcium or sodium intake. Urine was collected throughout an entire day in two separate clean plastic bottles with thymol. The 12-h daytime collection began at 8 am (after discarding first-morning urine) and ended at 8 pm; at this time, children were told to perform a micturition in the "12-h day" bottle, so the bladder was empty at the beginning of the subsequent urine collection. From then on, urine was collected in the "12-h night" bottle until 8 am next day (first-morning fasting-state urine).

Urine volume, pH, and concentrations of creatinine (Cr), calcium (Ca), phosphorous (P), oxalate (Ox), uric acid (Ur), citrate (Cit), and magnesium (Mg) were determined. Urine

was acidified before determination of Ca, P, Mg, Ox, and Cit. All analyses were performed using an Architect C16000 Autoanalyzer (Abbott Diagnostics, Illinois, USA). P was measured by ammonium molybdate reduction, Mg by an enzymatic assay, Ca by a colorimetric reaction with Arsenazo III calcium-sensitive dye, Ur by the uricase method, and Cr by the kinetic Jaffe method. Urinary Cit was measured spectrophotometrically using an enzymatic assay (Biosystems, Barcelona, Spain) on an A15 Autoanalyzer. Urinary Ox was determined enzymatically using the oxalate oxidase/oxidase method (LTA, Milano, Italy).

Sampling adequacy was determined by asking the parents about the completeness of urine collection. In addition, only samples with Cr values of 15–25 mg/kg/day were accepted for evaluation [2,12]. Urinary volume and solute concentrations were calculated separately for each 12-h sample, and for the overall 24-h period. Data on pH were only available from 12-h samples.

The crystallization risk in urine was determined from the Ca/Cit mass ratio, and a threshold of 0.33 in 24-h urine was used to indicate increased risk [13]. Definitions of urinary metabolic abnormalities used current reference data for children [2,3] (Ca/Cr > 0.20 mg/mg for hypercalciuria; Cit/Cr < 0.250 mg/mg for hypocitraturia).

Solute levels are presented as medians, percentiles, and proportions. The Wilcoxon signed-rank test was used to compare results of the 12-h day and 12-h night samples. Bland-Altman plots were used to compare the daytime and overnight samples. A *p*-value lower than 0.05 was considered statistically significant. IBM SPSS Statistics® for Windows (version 22.0) was used for all analyses.

Results

The healthy group had 50 boys and 37 girls, and the stone-forming group had 15 boys and 11 girls. The healthy group had a mean (\pm SD) age of 12 (\pm 3) years and a mean BMI of 19.1 (\pm 3) kg/m², and the stone formers had a mean age of 12 (\pm 4) years and a mean BMI of 19.3 (\pm 4) kg/m².

The overall mean urinary Cr levels were similar in the daytime samples (11.0 mg/kg/12 h, 95% confidence interval [CI]: 10.5 to 11.4) and overnight samples (10.2 mg/kg/12 h, 95% CI: 9.8 to 10.6). The overall 24-h urine flow rate ranged from 0.4 to 2.0 mL/kg/h, and the mean was 1.0 mL/kg/h in both groups. The mean urine flow rate was slightly lower in the overnight samples (0.8 mL/kg/h; 95% CI: 0.7–0.9 h in healthy children and 0.9 mL/kg/h; 95% CI: 0.7 to 1.2 in stone formers) than in the daytime samples (1.1 mL/kg/h; 95% CI: 1 to 1.2 in healthy children and 1.0 mL/kg/h; 95% CI: 0.7 to 1.3 in stone formers).

Tables 1 and 2 show the median pH and solute levels in 24-h samples, 12-h daytime samples, and 12-h overnight samples in healthy children and stone formers. The day-to-night differences were similar in the two groups. In particular, the 12-h overnight samples had higher levels of P and Mg, and lower levels of citrate, uric acid, and pH. The calcium and oxalate levels were similar during the different periods.

Fig. 1 shows the solute levels in the 12-h daytime and 12-h overnight samples for each subject. The overnight

Table 1 Urinary solute excretion measured in 12-h daytime samples, 12-h overnight samples, and in overall 24-h urine in healthy children (n = 87).

Urinary parameter	12-h day Median	12-h overnight Median	P value ^a	24-h Median
Volume (ml)	480 (379–707)	360 (300–450)	<0.001	875 (677–1177)
pH	6.6 (6.1–6.9)	5.8 (5.6–6.2)	<0.001	na
Ca (mg/kg)	0.71 (0.44–1.1)	0.81 (0.47–1.27)	0.025	1.57 (1.04–2.50)
Ca/Cr (mg/mg)	0.07 (0.04–0.1)	0.08 (0.05–0.12)	0.003	0.08 (0.05–0.1)
P (mg/1.73m ²)	407 (320–520)	517 (424–610)	<0.001	965 (765–1073)
P/Cr (mg/mg)	0.66 (0.57–0.85)	0.90 (0.75–1.08)	<0.001	0.78 (0.65–0.96)
Ox (mg/1.73m ²)	13.2 (11.3–17.0)	12.2 (9.5–15.5)	0.047	25.9 (21.6–29.8)
Ox/Cr (mmol/mol)	28.7 (23.3–36.4)	29.7 (23.6–35.3)	0.780	29.6 (23.3–37.0)
Ur (mg/1.73m ²)	362 (312–420)	243 (193–300)	<0.001	598 (538–698)
Ur/Cr (mg/mg)	0.60 (0.51–0.71)	0.43 (0.36–0.49)	<0.001	0.51 (0.45–0.62)
Mg (mg/kg)	0.90 (0.77–1.07)	1.29 (0.93–1.63)	<0.001	2.15 (1.73–2.70)
Mg/Cr (mg/mg)	0.08 (0.07–0.09)	0.13 (0.09–0.20)	<0.001	0.11 (0.08–0.12)
Cit (mg/kg)	6.79 (4.7–8.8)	3.85 (2.7–5.3)	<0.001	11.0 (7.9–13.9)
Cit/Cr (mg/g)	649 (457–817)	410 (279–589)	<0.001	541 (368–723)
Ca/Cit (mg/mg)	0.11 (0.07–0.16)	0.21 (0.10–0.34)	<0.001	0.15 (0.09–0.23)

Ca: calcium, Cit: citrate, Mg: magnesium, Ur: uric acid, Cr: creatinine, Ox: oxalate, P:phosphate, na: not assessed.

^a p value from the comparison of 12-h day vs 12-h overnight measurements.

samples had a lower pH in 84% of the children (Fig. 1A), a lower Ur/Cr in 90% of the children (Fig. 1B), and a lower Cit/Cr in 93% of the children (Fig. 1C). Children who did not have this pattern had small day-to-night differences. On the other hand, the overnight samples had a higher Mg/Cr ratio (Fig. 1D) and a higher P/Cr ratio (Fig. 1E). There were no day-to-night differences in the Ox/Cr ratio (Fig. 1F) or the Ca/Cr ratio (Fig. 1G). Crystallization risk (Ca/Cit ratio) was greater in the overnight samples than in the daytime samples in 82% of the children. In this ratio, the day-to-night differences were wider when increasing averaged magnitude of the ratio.

Table 3 shows the percentages of metabolic abnormalities (Ca/Cr, Cit/Cr, and Ca/Cit) in 12-h overnight and 24-h samples in healthy and stone-forming children. In general, both groups had more alterations in the 12-h overnight samples than in the 24-h samples. However, the percentage of stone-forming children with hypercalciuria (Ca/Cr > 0.20) was slightly higher based on the 24-h samples. Furthermore, as expected, there was a higher percentage of children with metabolic abnormalities in the stone-forming group.

On the other hand, if we study the number of subjects with urinary Ca/Cr > 0.20 mg/mg or Ca/Cit > 0.33 mg/mg in

Table 2 Urinary solute excretion measured in 12-h daytime samples, 12-h overnight samples, and in overall 24-h urine in stone-forming children (n = 26).

Urinary parameter	12-h day Median	12-h overnight Median	P value ^a	24-h Median
Volume (ml)	625 (360–960)	545 (350–709)	0.121	1210 (730–2000)
pH	6.3 (6.1–7.1)	5.9 (5.6–6.1)	0.001	na
Ca (mg/kg)	2.05 (1.31–2.5)	1.88 (1.27–2.36)	0.770	3.88 (2.84–5.02)
Ca/Cr (mg/mg)	0.17 (0.13–0.27)	0.17 (0.12–0.24)	0.889	0.17 (0.15–0.24)
P (mg/1.73m ²)	321 (243–440)	470 (374–591)	<0.001	840 (615–1036)
P/Cr (mg/mg)	0.52 (0.38–0.81)	0.84 (0.63–1.03)	<0.001	0.74 (0.55–0.85)
Ox (mg/1.73m ²)	19.4 (12.3–26.4)	15.6 (11.6–26.3)	0.258	34.5 (25.3–53.6)
Ox/Cr (mmol/mol)	39.8 (25.8–56.6)	36.5 (26.7–52.4)	0.269	40.5 (27.1–59.2)
Ur (mg/1.73m ²)	315 (261–400)	216 (167–356)	<0.001	569 (451–738)
Ur/Cr (mg/mg)	0.57 (0.45–0.63)	0.41 (0.30–0.50)	0.001	0.48 (0.40–0.56)
Mg (mg/kg)	0.95 (0.75–1.22)	1.16 (0.80–1.40)	0.191	2.10 (1.63–2.57)
Mg/Cr (mg/mg)	0.09 (0.06–0.12)	0.11 (0.08–0.16)	0.048	0.11 (0.07–0.13)
Cit (mg/kg)	5.4 (4.3–6.7)	3.5 (2.5–5.0)	<0.001	9.7 (7.7–11.4)
Cit/Cr (mg/g)	534 (365–712)	341 (199–539)	<0.001	460 (334–588)
Ca/Cit (mg/mg)	0.41 (0.22–0.60)	0.52 (0.36–0.92)	0.001	0.46 (0.31–0.67)

Ca: calcium, Cit: citrate, Mg: magnesium, Ur: uric acid, Cr: creatinine, Ox: oxalate, P:phosphate, na: not assessed.

^a p value from the comparison of 12-h day vs 12-h overnight measurements.

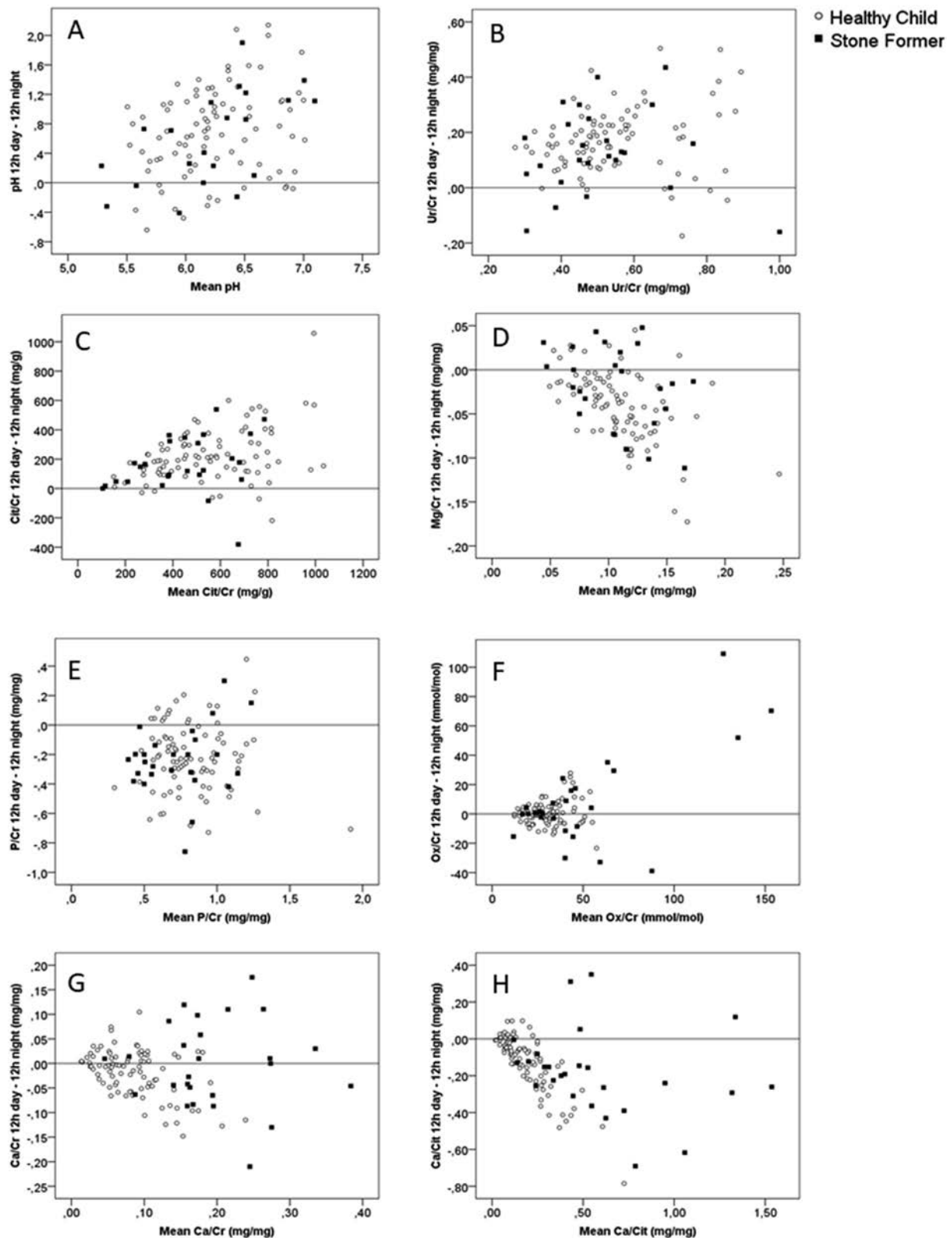


Fig. 1 Bland-Altman plots of differences between the two samples of each child, against averaged value of measurements. (A) pH, (B) uric acid/creatinine, (C) citrate/creatinine, (D) magnesium/creatinine, (E) phosphate/creatinine, (F) oxalate/creatinine, (G) calcium/creatinine and (H) calcium/citrate ratio. Differences were calculated by subtracting the 12-h overnight value from the 12-h daytime value.

Table 3 Number of urine samples with Ca/Cr, Cit/Cr, and Ca/Cit above cut points of normal. Percentages are calculated relative to children in each group (healthy children or stone-forming children).

Urinary alteration	Healthy		Stone formers	
	12-h night urine	24-h urine	12-h night urine	24-h urine
Ca/Cr > 0.20 mg/mg	6/87 (6.9%)	1/87 (1.1%)	8/26 (30.8%)	10/26 (38%)
Cit/Cr < 250 mg/g	15/87 (17.2%)	4/87 (4.6%)	9/26 (34.6%)	5/26 (19.2%)
Ca/Cit > 0.33 mg/mg	22/87 (25%)	7/87 (8%)	21/26 (80.8%)	18/26 (69.2%)

Table 4 Number of subjects with urinary Ca/Cr > 0.20 mg/mg or Ca/Cit > 0.33 mg/mg in healthy (Table 4A) and stone-forming children (Table 4B) in 12-h overnight and 24-h urine.

		24-h urine	
		Altered	Not altered
A			
12-h overnight urine	Altered	7 (8%)	16 (18%)
	Not altered	0 (0%)	64 (74%)
B			
12-h overnight urine	Altered	17 (66%)	4 (15%)
	Not altered	1 (4%)	4 (15%)

both periods (12-h overnight and 24-h urine), all children with altered levels in the 24-h sample would be detected with the analysis of 12-h overnight sample alone (Tables 4A and B), except in one case of a stone-forming children.

Discussion

This descriptive study indicates that urine composition changes throughout the day, and that there is daily variability in most of the parameters that affect lithogenesis. Furthermore, 12-h overnight samples seem to be more sensitive than 24-h samples in detecting the most common urinary abnormalities.

The study's data indicate that the nighttime samples had higher levels of P and Mg, lower levels of Cit and Ur, lower pH, and lower volume than the daytime samples. It is noteworthy that these variations occurred in healthy and stone-forming children, although the small sample size in the stone-forming group may have led to a weaker statistical significance. We observed strong consistencies of intraindividual day-to-night differences in some parameters (urinary volume, pH, Cit, Ur, P, and Mg) in healthy and stone-forming children. It is likely that environmental factors, especially food and fluid intake [14–17] and the excretory rhythms of the kidney, are responsible for these variations [18,19].

A lower urine output at night is expected simply because fluid intake is reduced and the level of antidiuretic hormone is greater at this time. Furthermore, the excretion of urinary solutes rises after meals and falls at night with fasting. However, the study's results only indicated lower nocturnal urinary levels of citrate and uric acid; we found greater levels of Mg and P at night, and no day-to-night

differences in Ca and Ox. Altogether, these findings suggest that the daily changes in urine composition are most likely determined by endogenous factors related to renal balance and which contribute to homeostasis. For example, previous research indicated that metabolic acidosis at night results in higher Cit and Ur reabsorption in the proximal tubules, thus reducing excretion of these solutes at this time [20–23].

On the other hand, nocturnal acidosis leads to increased excretion of P and Ca owing to increased bone reabsorption at that time [24]. In contrast to P, the day-to-night differences of Ca are balanced by highly regulated intestinal absorption (mediated by the vitamin-D receptor) that increase Ca levels after eating. In the case of Ox, excretion is related specially to intestinal calcium absorption, with no day-to-night pattern variations [25]. Finally, higher Mg levels are expected at night, owing to increased consumption related to the physical activity during the day [26].

We also compared 12-h overnight urine samples with traditional 24-h urine samples. Previous studies demonstrated that evaluation of 24-h urine samples may underestimate the risk of stone formation because measurements are averaged from periods with low and high risk of stone formation [8,9,27]. Thus, Tiselius suggested analysis of multiple timed urine samples, collected throughout the day [8]. However, this method significantly increases the expense of sampling, can be overly complicated in children, and the results may depend on daily changes in activity. Other researchers suggested that analysis of spot urine samples, collected at known critical hours of the day, might be the best option for a simplified evaluation of risk in pediatric patients [15]. The study's proposed alternative — analysis of 12-h overnight urine samples — is supported by studies which demonstrated that increased risk of lithiasis is most likely in the late evening, night, and early morning hours [8,15,28]. In addition, use of 12-h urine samples provides clinicians with information about the urinary volume, a major factor affecting urinary crystallization [11].

We focused on the Ca/Cit ratio for evaluation of the risk of calcium stones because previous studies reported this ratio is more strongly related to stone formation than the absolute amount of each solute [8,29]. Thus, a Ca/Cit ratio higher than 0.33 in a 24-h urine sample reliably discriminated Ca stone formers from healthy children [30], and those with the highest ratios had more severe disease [31,32]. We found that the Ca/Cit ratio was significantly higher in the 12-h overnight samples of both groups. It is also noteworthy that children with higher average Ca/Cit ratios (and thus greater risk for Ca salt crystallization) had

greater increases of this ratio in their 12-h overnight samples.

We also compared the use of 12-h overnight samples for detection of hypercalciuria, hypocitraturia, and altered Ca/Cit ratio with the "gold standard" 24-h urine samples [3,33]. These abnormalities underlie the most common metabolic disorders in stone-forming patients and can also occur in healthy individuals [34,35], (although, as also indicated by the study's results, these abnormalities are less prevalent in healthy people). The study's results showed that for Cit excretion and the Ca/Cit ratio, there were more abnormal values in the 12-h overnight samples than in the 24-h samples. This also occurred in healthy children with hypercalciuria but not in stone-forming children.

Finally, to evaluate the use of 12-h overnight samples in the detection of metabolic abnormalities related to calcium excretion, we analyzed children who had altered Ca/Cr or Ca/Cit ratios in 24-h and 12-h nighttime samples. All healthy children with abnormal Ca/Cr or Ca/Cit ratios in 24-h samples had the same abnormalities in 12-h overnight samples. We found the same results for all but one of the stone-forming children; this child only had an elevated Ca/Cr ratio in the 12-h sample, probably owing to a predominantly absorptive hypercalciuria.

A limitation of the study is the small number of children with lithiasis. This is simply owing to the low prevalence of kidney stones in children. However, we believe the study's results provide a foundation for analysis of this issue in larger studies. It is possible that the 12-h overnight samples do not identify the few cases of hypercalciuria with a predominantly absorptive component. In addition, we should consider analysis of urinary calcium after intake of calcium-rich foods. On the other hand, we found other children with altered calcium or Cit/Cr ratios at night whose 24-h samples were normal. These results suggest there is a higher risk for urinary crystallization during the night, and that this may be overlooked by using 24-h samples. The clinical relevance of these findings requires further investigation.

On the other hand, certainly, in some cases, it is very difficult to collect urine at night, so this method of urine collection is not suitable for children with nocturnal enuresis. The knowledge of the urinary biochemistry splitting diurnal and nocturnal period, could be useful in those cases we cannot obtain whole day urine sample for different reasons (family or work timetables, bedwetting, etc).

Conclusion

Changes in urine composition throughout the 24-h period should be considered when evaluating the risk of stone formation. The results of this work can be useful for the clinician to help interpret urine biochemistry in cases when a 24-h collection is challenging and only daytime or nighttime samples can be collected. The study's data also suggest that night is a period of increased risk of crystallization owing to a higher urine excretion of stone-promoting substances and a lower citrate excretion. However, they do not provide enough evidence for concluding that the use of a

12-h overnight sample collection can replace traditional 24 h urine collection in the metabolic evaluation of children with lithiasis.

Author statements

Acknowledgements

None.

Ethical approval

Prior approval was provided from the ethics committee (IB3152/16), and informed consent was provided by all parents.

Funding

This work was supported by project grant AEE42/2015 from Conselleria d'Innovació, Recerca i Turisme, Govern de les Illes Balears. The funding organization played no role in the study design; in the collection, analysis, and interpretation of data; in the writing of the report; or in the decision to submit the report for publication.

Competing interests

None of the authors have any conflicts of interest to declare.

References

- [1] Sas DJ. An update on the changing epidemiology and metabolic risk factors in pediatric kidney stone disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011;6(8):2062–8.
- [2] Tasian GE, Copelovitch L. Evaluation and medical management of kidney stones in children. *J Urol* 2014;192(5):1329–36.
- [3] Hoppe B, Kemper MJ. Diagnostic examination of the child with urolithiasis or nephrocalcinosis. *Pediatr Nephrol* 2010;25(3):403–13.
- [4] Stapleton FB. Childhood stones. *Endocrinol Metab Clin N Am* 2002;31(4):1001–105.
- [5] Hong YH, Dublin N, Razack AH, Mohd MA, Husain R. Twenty-four hour and spot urine metabolic evaluations: correlations versus agreements. *Urology* 2010;75(6):1294–8.
- [6] Penniston KL, Nakada SY. Updates in the metabolic management of calcium stones. *Curr Urol Rep* 2018;19(6):41.
- [7] Chan KH, Moser EA, Whittam BM, Misseri R, Cain MP, Krambeck A. The ability of a limited metabolic assessment to identify pediatric stone formers with metabolic abnormalities. *J Pediatr Urol* 2019;14(4):331.
- [8] Tiselius HG. Should we modify the principles of risk evaluation and recurrence preventive treatment of patients with calcium oxalate stone disease in view of the etiologic importance of calcium phosphate? *Urolithiasis* 2014;43(1):47–57.
- [9] Cameron MA, Baker LA, Maalouf NM, Moe OW, Sakhaee K. Circadian variation in urine pH and uric acid nephrolithiasis risk. *Nephrol Dial Transplant* 2007;22(8):2375–8.
- [10] Choi IS, Jung ES, Choi YE, Cho YK, Yang EM, Kim CJ. Random urinary calcium/creatinine ratio for screening hypercalciuria in children with hematuria. *Ann Lab Med* 2013;33(6):401–5.

- [11] Sáez-Torres C, Rodrigo D, Grases F, García-Raja AM, Gómez C, Lumbreras J, et al. Urinary excretion of calcium, magnesium, phosphate, citrate, oxalate, and uric acid by healthy school-children using a 12-h collection protocol. *Pediatr Nephrol* 2014;29(7):1201–8.
- [12] Remer T, Neubert A, Maser-Gluth C. Anthropometry-based reference values for 24-h urinary creatinine excretion during growth and their use in endocrine and nutritional research. *Am J Clin Nutr* 2002;75(3):561–9.
- [13] Srivastava T, Winston MJ, Auron A, Alon US. Urine calcium/citrate ratio in children with hypercalciuric stones. *Pediatr Res* 2009;66(1):85–90.
- [14] Borghi L, Meschi T, Amato F, Briganti A, Novarini A, Giannini A. Urinary volume, water and recurrences in idiopathic calcium nephrolithiasis: a 5-year randomized prospective study. *J Urol* 1996;155(3):839–43.
- [15] Porowski T, Kirejczyk JK, Zoch-Zwierz W, Konstantynowicz J, Korzeniecka-Kozerska A, Motkowski R, et al. Assessment of lithogenic risk in children based on a morning spot urine sample. *Int Braz J Urol* 2011;37(4):556.
- [16] Meschi T, Maggiore U, Fiaccadori E, Schianchi T, Bosi S, Adorni G, et al. The effect of fruits and vegetables on urinary stone risk factors. *Kidney Int* 2014;66(6):2402–10.
- [17] Prezioso D, Strazzullo P, Lotti T, Bianchi G, Borghi L, Caione P, et al. Dietary treatment of urinary risk factors for renal stone formation. A review of CLU Working Group. *Arch Ital Urol Androl* 2015;87(2):105–9.
- [18] Stow LR, Gumz ML. The circadian clock in the kidney. *J Am Soc Nephrol* 2011;22(4):598–604.
- [19] Firsov D, Bonny O. Circadian regulation of renal function. *Kidney Int* 2010;78(7):640–5.
- [20] Tiselius HG, Berg C, Fornander AM, Nilsson MA. Effects of citrate on the different phases of calcium oxalate crystallization. *Scanning Microsc* 1993;7:381–9.
- [21] DeSanto NG, Dilorio B, Capasso G, Capodicasa G, Giordano DR, Aulisio M. Circadian rhythm with acrophase at night for urinary excretion of calcium and magnesium in childhood: population-based data of the cimitile study in southern Italy. *Miner Electrolyte Metab* 1988;4(4):235–9.
- [22] Zuckerman JM, Assimos DG. Hypocitraturia: pathophysiology and medical management. *Rev Urol* 2009;11(3):134–44.
- [23] Touitou Y, Auzéby A, Camus F, Djeridane Y. Twenty-four-hour profiles of urinary excretion of calcium, magnesium, phosphorus, urea, and creatinine in healthy prepubertal boys. *Clin Biochem* 2010;43(1–2):102–5.
- [24] Wagner CA, Rubio-Aliaga I, Hernando N. Renal phosphate handling and inherited disorders of phosphate reabsorption: an update. *Pediatr Nephrol* 2017:1–11.
- [25] Matos V, Van Melle G, Werner D, Bardy D, Guignard JP. Urinary oxalate and urate to creatinine ratios in a healthy pediatric population. *Am J Kidney Dis* 1999;34(2):e1.
- [26] Blaine J, Chonchol M, Levi M. Renal control of calcium, phosphate, and magnesium homeostasis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2015;10(7):1257–72.
- [27] Tiselius HG. Risk formulas in calcium oxalate urolithiasis. *World J Urol* 1997;15:176–85.
- [28] Rodriguez A, Saez-Torres C, Mir C, Casasayas P, Rodriguez N, Rodrigo D, et al. Effect of sample time on urinary lithogenic risk indexes in healthy and stone-forming adults and children. *BMC Urol* 2018;18(1):116–20.
- [29] Baumann JM, Affolter B. From crystalluria to kidney stones, some physicochemical aspects of calcium nephrolithiasis. *World J Nephrol* 2014;3(4):256–67.
- [30] DeFoor W, Minevich E, Jackson E, Reddy P, Clark C, Sheldon C, et al. Urinary metabolic evaluations in solitary and recurrent stone forming children. *J Urol* 2008;179(6):2369–72.
- [31] DeFoor WR, Jackson E, Minevich E, Caillat A, Reddy P, Sheldon C, et al. The risk of recurrent urolithiasis in children is dependent on urinary calcium and citrate. *Urology* 2010;76(1):242–5.
- [32] Sikora P, Zajaczkowska M, Hoppe B. Assessment of crystallization risk formulas in pediatric calcium stone-formers. *Pediatr Nephrol* 2009;24(10):1997–03.
- [33] Hernandez JD, Ellison JS, Lendvay TS. Current trends, evaluation, and management of pediatric nephrolithiasis. *JAMA Pediatr* 2015;169(10):964–70.
- [34] Srivastava T, Schwaderer A. Diagnosis and management of hypercalciuria in children. *Curr Opin Pediatr* 2009;21(2):214–9.
- [35] Bergsland KJ, Coe FL, White MD, Erhard MJ, DeFoor WR, Mahan JD, et al. Urine risk factors in children with calcium kidney stones and their siblings. *Kidney Int* 2012;81(11):1140–8.