

**DETERMINACIÓN DE VALORES DE REFERENCIA PARA MARCADORES DE UROLITIASIS EN ORINA DE ESTUDIANTES DE LA FACULTAD DE BIOQUÍMICA Y CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL SANTA FE 2014-2016**

**Bartolomé Jimena <sup>A</sup>**

*<sup>A</sup> Departamento de Bioquímica Clínica y Cuantitativa, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral*

**Área: Ciencias Biológicas  
Sub-área: Bioquímica  
Grupo: X**

**Palabras claves:** calciuria, oxaluria, citraturia

## **INTRODUCCIÓN**

La urolitiasis es una patología multifactorial, siendo el estudio metabólico de los pacientes litiasicos indispensable para prevenir la alta recurrencia de esta enfermedad (Ruiz Pecchio y col, 2015). El mismo implica la determinación de inhibidores y promotores de la litogénesis presentes en la orina (pH, diuresis, calcio, citrato, oxalato, ácido úrico, fosfato, sulfato, magnesio y amonio, entre los principales). La cristalización de las sales formadoras de cálculos depende del equilibrio entre promotores e inhibidores encontrándose en una solución metaestable; cualquier alteración de dicho equilibrio condiciona un estado de sobresaturación que favorece la precipitación y la subsiguiente formación del cálculo (Salha Villanueva y col, 2007). Las alteraciones metabólicas más frecuentemente asociadas a litiasis son la hipercalciuria, la hiperoxaluria, la hipocitraturia y la hiperuricosuria.

En las sociedades occidentales el oxalato de calcio es el principal constituyente de la mayoría de los cálculos (Khan y col, 2016). El oxalato proviene de dos fuentes: la producción endógena y la absorción intestinal a partir de los alimentos. El oxalato tiene más influencia que el calcio como promotor de la cristalización en condiciones de hipercalciuria e hiperoxaluria, refiriéndose que es 15-20 veces más potente que el exceso de calcio (Salha Villanueva y col, 2007). El citrato, en cambio, es un fuerte inhibidor de la cristalización de sales de calcio. La mayoría de los pacientes con litiasis renal presentan hipocitraturia (Del Valle, 2013). En cuanto a la litiasis renal de ácido úrico, el principal factor de riesgo es un pH urinario persistentemente ácido, y no necesariamente la hiperuricemia o hiperuricosuria (Kim y col, 2016).

Las concentraciones en orina de los marcadores de urolitiasis dependen de factores climáticos, genéticos, ambientales, estilo de vida y alimentación, entre otros. De allí la necesidad de determinar los valores de referencia en cada población para realizar una certera evaluación metabólica.

## **OBJETIVOS**

El presente trabajo tiene como objetivos determinar los valores de referencia de calcio, oxalato, citrato y ácido úrico urinarios en una población sana de estudiantes de la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas (FBCB) de la Universidad Nacional del Litoral (UNL), Santa Fe. Además, establecer la frecuencia de hipercalciuria,

hiperoxaluria, hipocitraturia e hiperuricosuria utilizando el rango hallado y los publicados para otras poblaciones.

## **METODOLOGÍA**

### **Población y muestra de referencia**

Se definió como población de referencia los 679 alumnos de la Carrera de Bioquímica de la FBCB-UNL, de la ciudad de Santa Fe, Argentina, durante el período 2014-2016.

El tamaño de muestra se determinó con el Programa EPIDAT versión 3.1 para un nivel de confianza del 95 %, con una precisión del 5 % y una prevalencia esperada para esta enfermedad del 4 %, debiendo tener un tamaño mínimo de 55 alumnos.

Se estudiaron 100 alumnos de ambos sexos, con edades comprendidas entre 18 y 31 años. La participación fue voluntaria. Se realizó una reunión informativa y todos los alumnos firmaron su consentimiento (aprobado por el Comité Asesor de Ética y Seguridad de la Investigación de la FBCB-UNL). Luego de aplicar los criterios de exclusión, la muestra de referencia fue de 69 alumnos.

### **Datos personales, antropométricos y clínicos de la muestra de referencia**

Se aplicó una encuesta personal donde se recogieron datos de historia clínica, antecedentes familiares, dieta y hábitos personales. Se tomaron medidas antropométricas: peso, talla, y cintura abdominal. Se determinó la presión arterial tomando el valor promedio de las últimas dos de tres tomas de tensión arterial separadas por 2 minutos con el sujeto en sedestación y utilizando tensiómetro aneroide.

### **Especímenes analizados y determinaciones realizadas**

A todos los participantes se los instruyó sobre su preparación previa a la toma de muestra. Se obtuvo: sangre, orina de 24 h y la primer orina de la mañana.

Se extrajo sangre a los alumnos por punción venosa, se fraccionó para hemograma y pruebas químicas. Se separó el suero y se guardó en crioviales a  $-18^{\circ}$  C hasta el momento de su utilización. Se realizaron las determinaciones de laboratorio: hemograma por contador hematológico Sysmex XS 1000i y microscopia; glucosa, urea, colesterol y triglicéridos por métodos enzimáticos-colorimétricos; creatinina por método colorimétrico Jaffé cinético. Todos los kits utilizados fueron marca Wiener.

En las muestras de orina, se determinó la diuresis, el pH y la densidad. En la primer orina de la mañana además se realizó microscopia del sedimento y se estudió su composición química con tiras reactivas marca Combur-Test<sup>®</sup>. La orina de 24 horas se dividió en dos fracciones: una se acidificó a  $\text{pH} \leq 2$  con HCl 6N y la restante no. Ambas fracciones se centrifugaron y los sobrenadantes fueron guardados en crioviales a  $-18^{\circ}$  C hasta su utilización. Se cuantificó citrato por el método enzimático-colorimétrico de citrato liasa/malato deshidrogenasa de Bio-Systems, oxalato por el método enzimático-colorimétrico oxalato oxidasa/peroxidasa de Trinity Biotech, calcio por el método colorimétrico cresoltaleín complexona de Wiener y ácido úrico por el método enzimático uricasa/peroxidasa de Wiener. Se utilizó un espectrofotómetro Metrolab 1600 plus.

### **Tratamiento estadístico**

Para realizar el tratamiento estadístico de los datos se utilizó el programa estadístico Statgraphic Plus. Para el tamaño de muestra se utilizó Programa EPIDAT versión 3.1.

## RESULTADOS

Para la determinación de los valores de referencia se siguieron las recomendaciones del *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (Sasse y col, 2000). Luego de analizar los resultados de las determinaciones realizadas a la muestra se excluyeron quienes presentaron alguna de las siguientes características:

Historia personal y/o familiar de litiasis urinaria, personas que variaron su estilo de vida y hábitos alimentarios usuales en los 30 días anteriores al estudio, alteraciones séricas y/o urinarias de los parámetros bioquímicos evaluados, tasa de filtración glomerular estimada por ecuación de Cockcroft-Gault  $< 90 \text{ mL/min/1,73 m}^2$ , Índice de Masa Corporal:  $30 \text{ kg/m}^2 \leq \text{IMC} \leq 18 \text{ kg/m}^2$ , hipertensos, tratamiento con medicamentos o dietas particulares, consumo de alcohol  $> 45\text{g/día}$ , fumar más de 10 cigarrillos/día, embarazo y lactancia.

En la **Tabla 1** se muestra el análisis descriptivo de los datos obtenidos. Antes de calcular los intervalos de referencia, se observaron los histogramas con el objeto de inspeccionar la distribución. Se excluyeron los datos aberrantes utilizando los cuartiles Q1 y Q3. Se aplicaron pruebas de gaussianidad. Los datos de citrato, ácido úrico, y calcio tuvieron una distribución normal (asimetría y curtosis entre +2 y -2). El oxalato alcanzó esta condición luego de realizar una transformación logarítmica. El cálculo de los intervalos de referencia fue realizado utilizando el método paramétrico.

**Tabla 1:** Análisis estadístico: citrato, oxalato, calcio y ácido úrico en orina (mg/24h)

	Citrato mg/24h	Oxalato mg/24h	Calcio mg/24 h	Ácido úrico mg/24 h
<b>n</b>	62	68	66	69
<b>Promedio</b>	389,40	9,40	135,70	420,50
<b>Desviación estándar</b>	141,13	2,23	58,69	184,55
<b>Asimetría tipificada</b>	0,84	0,024	1,402	1,25
<b>Curtosis tipificada</b>	-0,16	0,30	-0,423	-0,50

Fuente: Elaboración a partir de resultados propios del proyecto.

En la **Tabla 2** se presentan para cada uno de los marcadores de urolitiasis estudiados, los intervalos de referencia (nivel de confianza 95%) con sus respectivos intervalos de confianza al 90% de cada extremo, según lo establecido por la Norma.

**Tabla 2:** Intervalos de referencia con 95% de confianza (mg/24h)

Analito	Intervalo de Referencia (NC 95%)
<b>Citraturia (mg/24h)</b>	112,78 (62,41 - 163,14) - 666,01 (615,64 - 716,37)
<b>Oxaluria (mg/24h)</b>	1,96 (1,49 - 2,58) - 45,08 (34,28 - 58,88)
<b>Calciuria (mg/24h)</b>	20,65 (0,35 - 40,95) - 250,74 (230,44- 271,04)
<b>Uricosuria (mg/24h)</b>	58,73 (0,05 - 121,16) - 782,17 (719,74 - 844,60)

Fuente: Elaboración a partir de resultados propios del proyecto.

Se analizó la conveniencia de realizar una partición según sexo aplicando el criterio de Linton, no siendo recomendable la misma para alguno de los analitos.

Los intervalos de referencia obtenidos fueron comparados con los valores establecidos para otras poblaciones. Con los mismos se determinaron los porcentajes de alumnos con hipocitraturia, hipercalciuria, hiperuricosuria, e hiperoxaluria en la fracción de la muestra que fue excluida del estudio anterior, **Tabla 3**.

**Tabla 3:** Comparación de los intervalos de referencia hallados con los de otras poblaciones

		Intervalo de Referencia		%
Citraturia	Inserto Kit	H: 114-912 mg/24h M: 247-1140 mg/24h	hipocitraturia n=38	-- 39%
	Valores hallados propios	113-666 mg/24h		3%
Oxaluria	Inserto Kit	H: 7-44 mg/24h M: 4-31 mg/24h	hiperoxaluria n=32	-- 9%
	Valores hallados propios	2-45 mg/24h		3%
Calciuria	Inserto Kit	300 mg/24h	hipercalciuria n=34	6%
	Valores hallados propios	21-251 mg/24h		12%
Uricosuria	Pak y col. (1985)	700 mg/24h	hiperuricosuria n=31	6%
	Valores hallados propios	59-782 mg/24h		6%

En la **Tabla 3** se puede observar que para el citrato, oxalato y calcio los valores de referencia hallados difieren a los estipulados en el kit comercial, esto determina que los porcentajes de alteraciones en la excreción de estos analitos sean diferentes. En el caso del ácido úrico los resultados fueron coincidentes con los referidos por Pak y col. Es necesario continuar el estudio evaluando la sensibilidad y especificidad de los valores de corte encontrados a través de las curvas *Receiver Operating Characteristic (ROC)* y la transferibilidad de los mismos.

### CONCLUSIÓN

Se obtuvieron los valores de referencia de ácido úrico, oxalato, citrato y calcio en orina de 24 horas en alumnos de la FBCB-UNL. Se encontraron diferencias a los referidos para otras poblaciones tanto en los insertos de los kit comerciales como los de otras publicaciones científicas. Estos resultados muestran la importancia de la determinación en cada población de intervalos de referencias propios para realizar un diagnóstico certero de la urolitiasis.

### BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

- Del Valle E., Spivacow F., Negri A.**, 2013. Citrato y litiasis renal. Medicina. Buenos Aires, 73, 363-368.
- Khan S. R., Pearle M. S., Robertson W. G., Gambaro G., Canales B. K., Doizi S., Traxer O., Tiselius H. G.**, 2016. Kidney stones. Nat Rev Dis Primers, 25, 2,1600.
- Kim M. J., Hopfer H., Mayr M.**, 2016. Uric acid, kidney disease and nephrolithiasis. Therapeutische Umschau, 73, 159-165.
- Pak C. Y., Skurla C., Harvey J.**, 1985. Graphic display of urinary risk factors for renal stone formation. The journal of Urology, 134, 5, 867-70.
- Ruiz Pecchio A. M., Pérez P., Ponte M. G., Meunier E., Sesín A. M.**, 2015. Prevalencia de nefrolitiasis en pacientes que asisten al hospital nacional de clínicas, de la provincia de Córdoba, Argentina. Consideraciones fisiopatológicas. Nefrología Argentina, 13, 2, 105-104.
- Salha Villanueva J., Medina Escobedo M., Arcos Díaz A., Martín Soberanis G.**, 2007. Excreción de oxalatos y citratos en pacientes adultos con litiasis urinaria. Medigraphic, 32, 4, 134-140.
- Sasse E. A., Dumas B. T., Orazio P., Eckfeldt J. H., Evans S. A., Graham G. A., Myers G. L., Parsons P. J., Stanton N. V.**, 2000. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline- second edition. National Committee for Clinical Laboratory Standards Document C28-A2. Pennsylvania, 19087-1898.