



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD**  
**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA SALUD**  
**EPIDEMIOLOGÍA CLÍNICA**

**MINERALIZACIÓN ÓSEA Y GENES ASOCIADOS A HIPERCALCIURIA EN**  
**PACIENTES DEL HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO**

**TESIS**  
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS

**PRESENTA:**  
ENRIQUE OMAR GUADARRAMA DÍAZ

**TUTOR PRINCIPAL**  
DRA. MARA MEDEIROS DOMINGO  
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

**MIEMBROS DEL COMITÉ TUTORAL**  
DRA. PATRICIA ELENA CLARK PERALTA  
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

DR. JUAN CARLOS RAMÍREZ SANDOVAL  
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR  
ZUBIRÁN

CIUDAD UNIVERSITARIA. CD. MX., SEPTIEMBRE DE 2018



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

---

Vo. Bo. DRA. MARA MEDEIROS DOMINGO  
**TUTOR PRINCIPAL**

---

Vo. Bo. DRA. PATRICIA ELENA CLARK PERALTA  
**RESPONSABLE DEL CAMPO ACADÉMICO  
EPIDEMIOLOGÍA CLÍNICA**

---

ENRIQUE OMAR GUADARRAMA DÍAZ  
**ALUMNO**

## Índice

<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>4</b>
DEFINICIÓN.....	4
FISIOPATOLOGÍA.....	5
GENÉTICA DE LA HIPERCALCIURIA.....	6
MANIFESTACIONES CLÍNICAS.....	7
HIPERCALCIURIA Y HUESO.....	8
DIAGNÓSTICO.....	9
<b>ANTECEDENTES</b> .....	<b>11</b>
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	<b>15</b>
<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>16</b>
<b>PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN</b> .....	<b>16</b>
<b>HIPÓTESIS</b> .....	<b>16</b>
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>16</b>
GENERAL.....	16
ESPECÍFICOS.....	17
SECUNDARIOS.....	17
<b>METODOLOGÍA</b> .....	<b>17</b>
<b>VARIABLES DE ESTUDIO</b> .....	<b>22</b>
<b>PLAN DE ANÁLISIS DE LOS DATOS</b> .....	<b>31</b>
<b>LIMITACIONES DEL ESTUDIO</b> .....	<b>32</b>
<b>CONSIDERACIONES ÉTICAS Y CONFIDENCIALIDAD</b> .....	<b>32</b>
<b>CONSIDERACIONES BIOSEGURIDAD</b> .....	<b>33</b>
<b>RESULTADOS</b> .....	<b>34</b>
<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>42</b>
<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>46</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>47</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>51</b>
CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	51
CARTA DE ASENTIMIENTO.....	55

## Marco teórico

### Definición

El término de hipercalciuria idiopática fue acuñado por Albright y col. en 1953 para referirse a los pacientes con urolitiasis recurrente que presentaban aumento en la excreción urinaria de calcio, con calcio sérico dentro de límites normales (1).

La hipercalciuria es el factor de riesgo más frecuente encontrado en niños con urolitiasis. Se ha reportado que su incidencia ha incrementado en las últimas décadas en menores de 18 años reportada hasta de 18.5 por cada 100,000 niños que acuden a un servicio de urgencias para el año 2007, comparado con 7.9 de cada 100,000 en el año 1996 (2).

En la homeostasis de calcio en el organismo participa el tracto gastrointestinal, el hueso y el riñón, con la acción de hormonas como la 1,25-dihidroxitamina D (1,25 OH<sub>2</sub> Vit D), la hormona paratiroidea (PTH), la calcitonina, el factor de crecimiento de fibroblastos 23 (FGF-23), entre otros (3). Normalmente, se tiene un balance neutro de calcio integrando la absorción de calcio en la dieta con las pérdidas en el sudor y la orina. El esqueleto representa la principal reserva de calcio, conteniendo el 99% del total en el cuerpo y contribuye en el equilibrio de calcio mediante la disolución de cristales de hidroxapatita y de manera adicional acoplado el proceso de formación y resorción de hueso por acción hormonal directa.(4)

La absorción gastrointestinal de calcio está dada por dos procesos de transporte: 1) Absorción transcelular saturable mediada por canales de calcio epiteliales que es regulada por 1,25 OH<sub>2</sub> Vit D y 2) Absorción paracelular no saturable, que depende del calcio de la dieta. A nivel renal, solo el calcio no unido a proteínas es filtrado al espacio urinario. Aproximadamente 70% del calcio filtrado se reabsorbe en el túbulo proximal, 20% en el asa gruesa ascendente de Henle y la regulación final del 10% restante ocurre en la nefrona distal. La reabsorción en

el túbulo proximal de calcio es paralela al sodio, de manera que cualquier situación que disminuya la reabsorción proximal de sodio como puede ser la expansión del volumen extracelular, también disminuye la reabsorción de calcio. En la porción distal de la nefrona, la reabsorción de calcio es estimulada por la PTH, diuréticos tiazídicos y amiloride e inhibida por acidosis metabólica y depleción de potasio sérico (3).

La HI es la excreción de calcio mayor a 4 mg/Kg/día en al menos dos recolecciones de orina diferentes durante 24 horas, o bien como una relación urinaria de calcio/creatinina elevada según el rango de edad (*Tabla 1*). Se ha encontrado hipercalciuria hasta en 5-10% de los niños aparentemente sanos (5); así mismo se puede presentar hipercalciuria fisiológica que se relaciona a una ingesta elevada de sodio, calcio o proteínas.

***Tabla 1. Valores normales de cociente calcio/creatinina en orina por grupo de edad (Modificado de Hoppe B y Kemper MJ)(6).***

<b>Edad</b>	<b>Valor normal (mg/mg)</b>
< 12 meses	0.81
1-3 años	0.53
3-5 años	0.39
5-7 años	0.28
> 7 años	0.21

### **Fisiopatología**

Cuando se presenta hipercalciuria es indispensable la determinación de calcio sérico, ya que si hay presencia de hipercalcemia se descarta la HI.

La hipercalciuria es generalmente idiopática. Charles Pak introdujo una clasificación tripartita para el diagnóstico según la excreción urinaria de calcio,

fosfato sérico y niveles de PTH, bajo dieta de restricción de calcio y posterior a una carga del mismo (7, 8):

- 1) Aumento en la absorción intestinal de calcio (Absortivas tipo I y II).
- 2) Disminución de la reabsorción renal de calcio (hipercalciuria renal) o de fósforo (hipercalciuria absortiva tipo III).
- 3) Aumento en la resorción ósea (hipercalciuria resortiva) (9).

En la absortiva tipo I, la hipercalciuria persiste a pesar de una dieta baja en calcio, las características clínicas son normocalcemia, hipercalciuria, aumento en la absorción intestinal de calcio, valores normales o disminuidos de PTH sanguínea y de AMP cíclico urinario. En la hipercalciuria absortiva Tipo II hay normocalciuria bajo dieta restringida e hipercalciuria con carga de calcio, y existe un exceso de  $1,25\text{ OH}_2$  Vit D. En la renal hay hipercalciuria en ayuno, bajo dieta y con carga de calcio, puede haber disminución de la velocidad de filtración glomerular e hiperparatiroidismo secundario. En la Tipo III hay hipofosfatemia e hipercalciuria en dieta restringida de calcio. En la resortiva ósea hay hipercalciuria en ayuno con normocalcemia y con función paratiroidea normal, en este caso participan citocinas como interleucina IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  y TGF- $\beta$ .

Actualmente la clasificación de acuerdo al mecanismo patológico que produce la hipercalciuria no se considera clínicamente relevante, debido a la complejidad entre los tres sistemas que intervienen y que el tratamiento y el abordaje en todos los casos es el mismo (10)

Se ha considerado que la hipercalciuria no es una enfermedad, sino una alteración metabólica, que no necesariamente requiere tratamiento farmacológico (11).

### **Genética de la hipercalciuria**

La agregación familiar de hipercalciuria y litiasis se conoce desde hace mucho tiempo. En el modelo de rata con hipercalciuria absortiva se reporta un incremento en la densidad de los receptores de vitamina D (VDR) en el intestino(12) situación que también se ha encontrado en pacientes con HI(13).

La mitad de los pacientes con hipercalciuria tienen antecedente familiar de litiasis. La HI se ha descrito como autosómica dominante ya que no sigue un patrón recesivo y hay evidencia de transmisión de padre a hijo lo cual descarta un padecimiento ligado a cromosoma X(14).

Se han descrito mutaciones monogénicas y polimorfismos genéticos en proteínas que participan ya sea directamente en la regulación de la homeostasis de calcio, en la absorción paracelular del mismo o bien en el metabolismo de la vitamina D, que ocasionan hipercalciuria, entre las que se encuentran los canales epiteliales de calcio, el sensor de calcio (CASR), WNK cinasas 1 y 4, Claudina 14, 16 y 19, VDR, así como en *CYP24A1* y *SLC34A3* (cotransportador sodio-fosfato) (15-19). Algunas de estas mutaciones llevan a hipercalciuria absorptiva, en el cual el defecto primario está en intestino, otras tienen principal efecto en hueso, otras en riñón y en algunas el efecto es combinado (15, 20). Ninguna mutación o polimorfismo hasta ahora ha sido relacionado a la HI.

### **Manifestaciones clínicas**

La hipercalciuria puede ser asintomática, o bien presentarse con hematuria macroscópica o microscópica con urolitiasis. Los síntomas patognomónicos en adultos como cólico renal y hematuria macroscópica, no ocurren con frecuencia en los niños. Dolor en el flanco o hematuria se encontró en 95% de los adolescentes y en 72% de los escolares, pero tan sólo en 56% en niños menores de 5 años (21).

Se ha reportado que en niños la HI puede manifestarse como disuria sin infección de vías urinarias(22), pero también que 21% de los niños con infecciones de vías urinarias presentan hipercalciuria(23).



## **Hipercalciuria y hueso**

Desde 1976 Alhava y cols. describieron que los pacientes con urolitiasis tenían menor densidad mineral ósea (DMO) (24), y se ha documentado una histología ósea anormal en pacientes con HI, con disminución de la mineralización y de la formación de hueso (25). También se ha reportado que los niños con hipercalciuria tienen disminución en la DMO (26). Un estudio en Brasil encontró que 35% de los niños presentan osteopenia al momento del diagnóstico de HI (27); las causas de esta disminución en la masa ósea podría ser genéticas, ya que se ha visto que las madres de los niños con hipercalciuria también pueden presentar osteoporosis (28), o bien estar relacionada con la dieta, la actividad física, y la participación de la respuesta inmune (29).

En un estudio reciente en el cual evalúan la absorciometría dual por rayos X (DXA), en niños con hipercalciuria idiopática realizado en Polonia, se encontró que 25% tenían un Valor Z <-1, y la DMO tenía una correlación positiva con los niveles de 25 hidroxivitamina D (25 OH Vit D) en suero (30).

Algunos pacientes con hipercalciuria pueden tener una pérdida de calcio mayor a lo que absorben, principalmente si tienen una dieta baja en calcio. La fuente del calcio adicional al ingerido es el hueso, el principal reservorio de calcio del cuerpo, por esto no se recomienda una dieta baja en calcio en ellos (31, 32).

En un estudio realizado en el Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIMFG), en 170 pacientes con litiasis que se admitieron en los servicios de Urología y Nefrología en un periodo de 5 años (2009-2014), de los cuales 164 que aceptaron participar en el estudio, 40% presentaban hipercalciuria, y 50% tenían historia heredo-familiar de litiasis. Así mismo en 102 pacientes mayores de 5 años en quienes se realizó restricción de calcio para determinar el tipo de hipercalciuria, se encontró que 11 niños mostraban hipercalciuria absorptiva. En las conclusiones reportadas se encontraron como principales factores de riesgo para litiasis a la hipocitraturia, hipomagnesuria e hipercalciuria(33).

La DXA sigue siendo el método referente para la medición de la DMO en niños debido a su disponibilidad, reproducibilidad, rapidez en su realización, baja exposición a radiación ionizante y datos de referencia en población pediátrica. Las metas de la DXA de hueso es identificar a los pacientes con alto riesgo de fracturas por fragilidad ósea, tomar decisiones con respecto al tratamiento médico y monitorizar la respuesta al tratamiento(34).

Los sitios esqueléticos preferidos para la medición mediante DXA en niños es la columna lumbar (L1-L4) y la corporal total, sin incluir la cabeza. El cráneo debe ser excluido, ya que constituye una masa ósea considerable que cambia poco con el crecimiento, actividad o enfermedades(34, 35).

La masa ósea, medida por DXA se reporta como contenido mineral de hueso (g) o como DMO (g/cm<sup>2</sup>). Estos valores son comparados con valores de referencia obtenidos de niños sanos de edad, sexo y étnia similares para el cálculo de valores Z con respecto a la media. Se considera como valor de corte para definir una DMO baja <-2 de valor Z, estipulado en las últimas guías para interpretación y reporte de DXA en niños y adolescentes, publicadas en el 2013(35).

## **Diagnóstico**

En sangre se solicita creatinina sérica, calcio, fósforo, magnesio, fosfatasa alcalina, pH, bicarbonato y ácido úrico. En todos los casos es necesario solicitar determinación de PTH y 25 OH Vit D.

En orina se solicita examen general de orina, en donde el pH de orina es importante para la precipitación de cristales, cuando este es alcalino, la densidad urinaria permite identificar si el paciente tiene una ingesta apropiada de líquidos, la presencia de hematuria y/o proteinuria se hace con facilidad, el examen del sedimento permite conocer si hay eritrocitos, leucocitos, bacterias o cristales.

La recolección de orina de 24 horas en al menos dos determinaciones diferentes. En niños sin continencia urinaria, se puede hacer el diagnóstico con una muestra aislada de orina corrigiendo el valor calcio en relación a la concentración de creatinina urinaria (Ver tabla 1)

## Antecedentes

Se llevó a cabo una búsqueda sistematizada, de julio de 2016 a abril de 2018, de la bibliografía que hiciera referencia a HI y DMO en niños, usando terminos MESH como: children idiopathic hypercalciuria y bone mineral density. También fueron utilizados terminos libres como: hypercalciuria, bone, lithiasis. Se utilizaron los buscadores: MEDLINE y LILACS. En la búsqueda fueron hallados solo 2 estudios observacionales de tipo longitudinal y 7 estudios transversales tanto descriptivos como analíticos. Todos se describen en la Tabla 2. Es importante mencionar que no existen estudios de cohorte prospectiva reportados y desde 1982 en trabajos no publicados y reportes de caso se ha estudiado la asociación entre HI y DMO.

**Tabla 2. Estudios observacionales que evaluaron la asociación de la HI con la DMO en niños**

<b>Autor, año y país</b>	<b>Tipo de estudio</b>	<b>Seguimiento</b>	<b>Tipo de población</b>	<b>Resultados</b>
Artemiuk I, et al. 2015 Polonia(30)	Transversal descriptivo	NA	31 niños 14 hombres y 17 mujeres 5 – 17 años, todos con diagnóstico de HI.	Valor Z – DMO en L1-L4 en 25.8% de niños <-1, principalmente mujeres. Niveles de 25 OH Vit D <20ng/mL en 71%. Nefrolitiasis concomitante a DMO reducida en 50% de casos.
Escribano J, et al. 2014 España/Alemania(36)	Análisis secundario de una cohorte prospectiva	NA	<b>Casos:</b> 31 Niños de 7 años de edad con HI. <b>Controles:</b> 135 Niños de 7 años de edad sin HIC extraídos de la cohorte del programa de obesidad infantil (CHOP).	Prevalencia de HI de 17.7%, ambos grupos con características basales antropométricas, sexo, dieta y actividad física similares. 22.6% de niños con HI y 11.9% de controles con DMO corporal total con valor Z

				menor a -1 con RR de 1.91 (95% IC 0.86 – 4.23, p= 0.113). 3 niños (2 controles y uno con HI) tuvieron valor Z <-2. Análisis multivariado demuestra que la HI y la talla influyen en DMO independiente de la ingesta de calcio o actividad física.
Penido et al 2012 Brasil(37)	Cohorte retrospectiva	11 años	80 niños 43 hombres y 37 mujeres	Excreción media de calcio antes y después de tratamiento con citrato de potasio y/o tiazidas de 5 a 2.6mgkgdía; Z-DMO columna lumbar de -0.763±0.96 a -0.537±898 (p<0.0001). No consideran factores como crecimiento, exposición solar o actividad física.
Schwaderer A et al 2008 Estados Unidos(38)	Cohorte retrospectiva	6 años de estudio, media de seguimiento no especificada	110 pacientes	Identificar cuantos niños con hipercalciuria y(o nefrolitiasis tienen DMO baja . 47% con DMO < -1 y 26% <-2. Se consideró solo DMO en columna lumbar. Pacientes con nefrolitiasis tuvieron la menor DMO.
Skalova S et al 2005 República Checa(39)	Transversal analítico	NA	9 niños y 6 niñas con 12.4±4 años de edad Comparación con estándares de referencia	Niveles elevados en orina de NAG sugiriendo una alteración tubular asociada. Considerar a la HI como factor de riesgo para crecimiento alterado y DMO

				disminuida. Correlación de r - 0.70, -0.64 y -0.55 entre calciuria y talla, área de DMO y vol de DMO.
Penido et al. 2003 Brasil(27)	Transversal analítico	NA	<p><b>Casos:</b> 88 niños con HI al diagnóstico (50 hombres, 38 mujeres) media edad 9.4 años. Divididos con litiasis y sin litiasis.</p> <p><b>Controles:</b> 29 niños sanos (13 hombres y 16 mujeres) media de edad 9.8 años.</p>	DMO disminuida (valor Z <-1) en columna lumbar en 35% de los pacientes en comparación con los niños sanos. Niveles elevados de N-telopéptido en pacientes con HI y correlación negativa con DMO lumbar. No diferencias en DMO entre aquellos con litiasis e hiperuricosuria.
García-Nieto V, et al. 2003 España(28)	Transversal analítico	NA	<p><b>Dos grupos de casos:</b> 40 niñas con media de edad de 9.5±3 años / 40 madres premenopáusicas menores de 45 años de edad.</p> <p><b>Dos grupos control:</b> 19 niñas con media de 10.1±3.2años 17 mujeres sanas con media de edad 36.81±5.5años</p>	Valor Z de <-1 en columna lumbar en niñas de 42.5% y 47.5% de las madres. Con disminución significativa del valor Z con respecto a los controles p<0.001
Freundlich M, et al. 2002 EUA(40)	Transversal descriptivo	NA	22 niños, 15 hombre y 7 mujeres, con sus madres premenopáusicas	DMO disminuida en 38% de los niños y 33% de las madres. Los hijos de madres osteopénicas con DMO en columna lumbar reducida en comparación con aquellos de madres con DMO normal (p<0.05).

				Marcadores de resorción ósea normales en niños con HI.
García-Nieto V, et al. 1997 España(26)	Transversal analítico	NE	<p><b>Casos:</b> 73 niños (34 hombres y 39 mujeres) 3 – 18 años</p> <p><b>Controles:</b> 57 niños (32 hombres y 25 mujeres) 3 – 13 años</p>	Niños con HI con osteocalcina y calcitriol séricos elevados, Mg y PGE2 urinarios elevado, en comparación con controles. Osteopenia en 30.1% de casos (valor Z columna lumbar $-1.72 \pm 0.51$ ). Pearson $r = -0.34$ $p < 0.01$ entre Z - DMO y edad.

NA: No aplica; RR: Riesgo relativo; IC: Intervalo de confianza; NAG: N-acetil-beta-glucosaminidasa; PGE2: Prostaglandina E2

## Planteamiento del problema

En México no existen reportes de HI en población infantil y la relación que tiene con la mineralización ósea o con alguna variación o mutación genética específicos.

Existen pocos trabajos que relacionen dicho padecimiento con la DMO, así como las características clínicas o espectro de gravedad de esta alteración metabólica que expliquen la alteración en la mineralización ósea en aproximadamente sólo el 30% de los casos.

Hasta el momento todos los trabajos que reportan DMO en pacientes con HI, la reportan como disminuida cuando se tiene un valor  $Z < -1$  en columna lumbar, a diferencia de lo que indican las guías actuales considerando el rango disminuido con  $Z < -2$ .

Se han demostrado alteraciones o modificaciones génicas para proteínas claves del metabolismo o absorción del calcio en entidades patológicas específicas relacionadas a hipercalciuria y litiasis o nefrocalcinosis, por lo que las mismas podrían ser precursoras del desarrollo de la HI, y a su vez, estar relacionado con disminución en la DMO.

La identificación en la variabilidad génica (polimorfismos) codificante para estas proteínas, su relación con la HI y la DMO, puede servir para establecer un pronóstico real en pacientes con esta patología y dar tratamiento oportuno y específico.



## Justificación

El estudio molecular de las variaciones en genes que codifican para proteínas claves del metabolismo del calcio, su relación clínica con el desarrollo de HI y su efecto sobre la DMO, podrían ayudar a desarrollar bases diagnósticas para su detección y ligado a estudios específicos sobre éstos genes utilizando herramientas de la biología molecular en pacientes futuros, se podrá lograr una mejor comprensión de la fisiopatología de la enfermedad, su relación en la resorción del calcio en los huesos y desarrollar medidas preventivas.

## Pregunta de Investigación

¿Cuál es la asociación de la DMO determinada por DXA con polimorfismos en genes relacionados al metabolismo de calcio e hipercalciuria *VDR*, *CASR*, *SLC34A3* y *Claudina 14, 16* y *19*, en pacientes de 5 a 18 años con HI en el HIMFG?

## Hipótesis

Polimorfismos en genes codificantes para *Claudina 14, 16, 19*, *VDR*, *CASR* y *SLC34A3* se asocian a una disminución de la DMO en pacientes pediátricos de 5 a 18 años con hipercalciuria idiopática en el HIMFG.

## Objetivos

### General

1. Asociar la DMO en pacientes con hipercalciuria idiopática de 5 a 18 años con polimorfismos en genes relacionados al metabolismo del calcio.

## **Específicos**

1. Evaluar la DMO mediante el uso de DXA.
2. Secuenciar las regiones génicas codificantes para *Claudina 14, 16, 19; CASR, VDR y SLC34A3* a través de análisis de exoma completo.
3. Asociar polimorfismos encontrados con la DMO.

## **Secundarios**

1. Correlacionar parámetros clínicos y bioquímicos séricos y urinarios con la DMO.

## **Metodología**

### **1. Diseño del estudio**

Estudio transversal descriptivo.

### **2. Lugar y tiempo de estudio**

Unidad de Diagnóstico e Investigación en Nefrología y Metabolismo Mineral Óseo en el HIMFG, en el periodo de Agosto de 2016 a Enero de 2018.

### **3. Población de estudio**

Pacientes que acudan a atención médica de primera vez o subsecuente con el diagnóstico de HI.

### **4. Tamaño de muestra**

Incluiremos a los pacientes que se logren captar en dos años, en una sola institución, por lo que se planea el estudio de toda la población con el diagnóstico en el tiempo propuesto para el estudio.

## **5. Criterios de inclusión**

- a. Pacientes de 5 a 18 años con diagnóstico de HI.
- b. Función renal normal determinada por el cálculo a partir de la creatinina plasmática.
- c. Suspender tratamiento (hidroclorotiazida o citrato de potasio) en caso de tenerlo indicado previo al ingreso al estudio por al menos 1 semana.
- d. Firma de consentimiento informado y asentimiento en mayores de 8 años.

## **6. Criterios de exclusión**

- a. Pacientes que tengan hipercalciuria secundaria (hiperoxaluria primaria, tratamiento con vitamina D, acidosis tubular renal, síndrome de Bartter, hiperparatiroidismo primario).

## **7. Criterios de Eliminación**

- a. Deseo voluntario de abandonar el estudio.
- b. Que en el estudio detallado se encuentre una causa secundaria de hipercalciuria.
- c. Pacientes con urolitiasis en quienes no se documente HI.

## **8. Estudio clínico, laboratorio y gabinete**

- a. Se realizará historia clínica con énfasis en antecedentes familiares de litiasis y enfermedad renal, además de alteraciones urinarias y control de esfínteres. Examen físico completo que incluye antropometría y presión arterial. Todo llevado a cabo por médico Nefrólogo Pediatra encargado del proyecto.
- b. Valoración nutricional mediante recordatorio de 24 horas solicitado directamente al cuidador primario o familiar con el que acuda el paciente al momento de la valoración. Posteriormente cada

recordatorio será analizado mediante el Software Food Processor Nutrition Analysis para determinar su composición en oligoelementos de interés como son calcio, sodio, proteínas y agua total. Esta valoración se llevará a cabo por nutrióloga.

c. *Estudios de laboratorio:*

Se obtendrán 8 ml de sangre para evaluar : Creatinina, calcio, fosfatos, magnesio, sodio, potasio, fosfatasa alcalina, pH, bicarbonato y ácido úrico, PTH, 25 OH Vit D y osteocalcina. Además en orina aislada: Examen general de orina con determinación de calcio, oxalato, fosfatos, creatinina, magnesio y citratos. En orina de 24 horas se cuantificará la cantidad total de calcio y creatinina excretados.

d. *Ultrasonido renal:*

Se realizará para determinar nefrocalcinosis o litiasis asintomática al momento del estudio o se consultará expediente clínico en caso de tener alguno reciente.

## **9. Evaluación de la DMO**

- a. Mediante  $DXA_x$ , tomando como referencia dos áreas anatómicas que serán valoradas en todos los pacientes, (corporal total menos la cabeza y de columna lumbar). Los valores de DMO se expresarán en  $g/cm^2$ , obteniendo el coeficiente de utilidad diagnóstica: El T-score y el Z-score. El primero de éstos, compara los resultados obtenidos en el paciente, con la masa ósea ideal de adulto en relación a su edad y sexo; mientras que el Z-score compara los valores obtenidos en el paciente contra sus pares de la misma edad y sexo, de una población de referencia. Debido al manejo de población infantil se utilizará Z-score. Trabajaremos con equipo iDXA lunar GE con un

filtro de cerium que resulta en energía de 45 y 80keV. Emite una dosis de radiación menor a 6  $\mu$ Sv. El equipo iDXA lunar se encuentra en el Centro de Investigación de Epidemiología Clínica del HIMFG.

## **10. Estudio genético**

### **a. Aislamiento de ADN genómico**

Se tomará una muestra de 3 ml de sangre venosa periférica de cada paciente, en tubo BD Vacutainer® con EDTA-K2 como anticoagulante. Se aislará el ADN genómico de los leucocitos empleando el kit Gentra® Puregene® Blood (QIAGEN®), de acuerdo a las especificaciones del proveedor. Se evaluará concentración y pureza del ADN aislado mediante espectrofotometría con luz UV ( $A_{260:280}$ ), se evaluará la integridad del DNA mediante electroforesis horizontal en gel de agarosa (0.8%, Buffer TAE 1X), con tinción fluorescente no tóxica (EZ-Vision®) y visualización con luz UV<sub>254-302</sub>. Las muestras serán ajustadas a una concentración de 100ng/ $\mu$ l, y almacenadas a -20°C hasta su utilización.

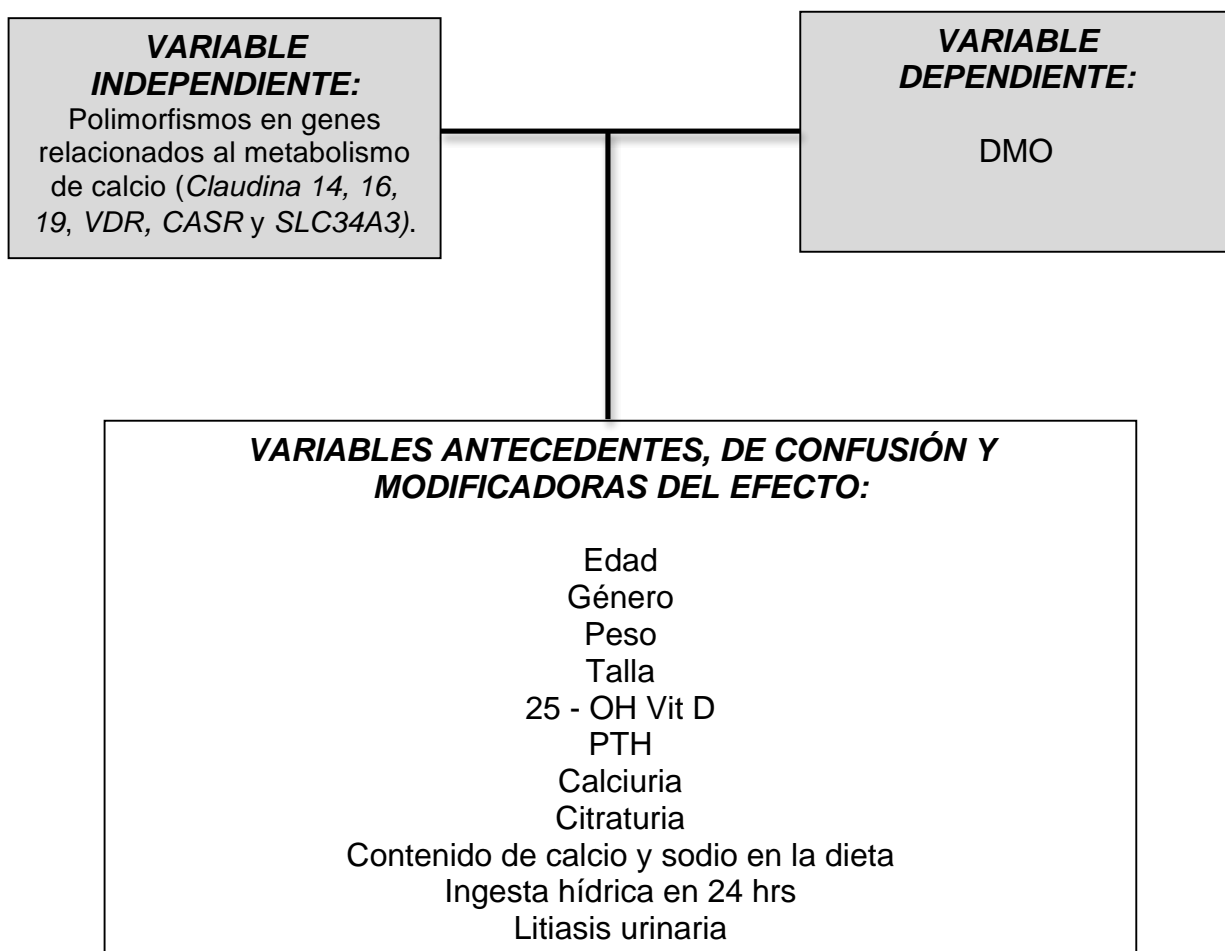
### **b. Panel de secuenciación masiva o de exoma completo. Trusight™ One Sequencing Panel**

Este método de secuenciación comprende 12 Mb de contenido genómico, incluyendo 4813 genes con descripción de más de 62,000 exones y sus sitios de splicing con relevancia clínica diversa y asociados a distintos fenotipos, los cuales pueden ser analizados en grupo completo o por subconjuntos. El panel de secuenciación se enfoca en regiones exónicas que se sabe son susceptibles de mutaciones y causan enfermedades diversas. Las secuencias

genómicas blanco, ya se encuentran identificadas en base a la información proporcionada por la Human Gene Mutation Database (HGMD), la Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) catalog y la GeneTests.org. Combinando datos de estas fuentes permite que el panel de secuenciación cubra todos los genes hasta ahora revisados en la investigación clínica reportada en la literatura.

## VARIABLES DE ESTUDIO

**Figura 1. Clasificación Metodológica**



**Tabla 3. Clasificación de acuerdo a nivel de medición**

<b>Variable</b>	<b>Definición conceptual</b>	<b>Definición operacional</b>	<b>Unidad de medición</b>	<b>Escala de medición</b>
<b>Densidad mineral ósea (DMO)</b>	Cantidad de mineral por cm <sup>2</sup> de hueso e importante predictor de osteoporosis	Cantidad mineral de hueso corporal total menos la cabeza y lumbar (L1-L4) medida con DXA comparada con la media de acuerdo a edad y género como Valor Z	Valor Z	Cuantitativa continua de intervalo
		Normal: Valor Z > -2 Baja: Valor Z < ó = -2	Normal / Baja	Cualitativa nominal dicotómica
<b>Variación génica</b>	Diferencias entre genotipos en cuanto a tamaño y constitución de bases	Polimorfismos identificados en los genes <i>Claudina 14, 16, 19, VDR, CASR</i> y <i>SLC34A3</i> por secuenciación directa y comparación con genoma humano	Presente / ausente	Cualitativa nominal dicotómica
<b>Edad</b>	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta la inclusión en el estudio	Grupo de edad al que corresponde el paciente de acuerdo a la edad en años	Prescolar (<6 años) Escolar (6 a 12 años) Adolescente (<12 años)	Cualitativa ordinal



<b>Sexo</b>	Condición orgánica que distingue al hombre de la mujer	Hombre o mujer	Masculino / Femenino	Cualitativa nominal dicotómica
<b>Peso</b>	Fuerza con que atrae la tierra a un cuerpo	Cuantificación en kilogramos y comparación de acuerdo a la media por edad y genero	Valor Z	Cuantitativa continua de intervalo
<b>Talla</b>	Estatura	Estatura determinada por estadímetro y comparación de acuerdo a la media por edad y genero	Valor Z	Cuantitativa continua de intervalo
<b>Antecedente familiar de litiasis</b>	Adquirir información de un paciente acerca de condiciones médicas del pasado	Obtenidos por interrogatorio directo a los padres, sobre eventos de litiasis en la familia	Presente / ausente	Cualitativa nominal dicotómica
<b>Litiasis urinaria</b>	Formación de litos en cualquier parte del tracto urinario, usualmente riñón, vejiga y ureter	Presencia actual o previa de litos identificada por ultrasonido morfológico renal	Presente / ausente	Cualitativa nominal dicotómica

<b>Tasa de filtrado glomerular</b>	Volumen de agua filtrada del plasma a través de los capilares glomerulares a la cápsula de Bowman por unidad de tiempo.	Estimación de la función renal mediante la formula de Schwartz modificada (TFG = $0.413(\text{Talla en cm/creatinina sérica})$ )  <u>Valores normales:</u> <u>64 – 145</u> <u>mL/min/1.73</u>	mL/min/1.73m2 SC	Cuantitativa continua de razón
<b>Fosfatos</b>	Niveles de fosfatos en suero	Obtenidos en suero y medido por técnica electrodo ion selectivo.  <u>Valores normales:</u> <u>Preescolares: 4.5 – 5.8 mg/dL</u> <u>Escolares: 3.5 – 5.5 mg/dL</u> <u>Adolescentes: 2.4 – 4.5 mg/dL</u>	mg/dL	Cuantitativa continua de razón.
<b>Calcio en suero</b>	Niveles de calcio en suero	Obtenidos en suero y medido por técnica electrodo ion selectivo.  <u>Valores normales:</u> <u>8.5 – 10.5 mg/dL</u>	mg/dL	Cuantitativa continua de razón.
<b>Magnesio sérico</b>	Niveles de magnesio en suero	Obtenidos en suero y medido por técnica electrodo ion selectivo.  <u>Valores normales:</u> <u>1.6 – 2.4 mg/dL</u>	mg/dL	Cuantitativa continua de razón

<b>Fosfatasa alcalina total</b>	Enzima que cataliza la conversión de un monoéster ortofosfórico y agua a alcohol y ortofosfato	Niveles de fosfatasa alcalina en suero <u>Valores normales:</u> <u>2 a 10 años: 100 – 320 UI/L</u> <u>Adolescente masculino: 100 – 390UI/L</u> <u>Adolescente femenino: 100 – 320 UI/L</u>	UI/L	Cuantitativa continua de razón
<b>Bicarbonato</b>	Niveles de bicarbonato sérico	Niveles de bicarbonato sérico obtenido por gasometría venosa <u>Valores normales:</u> <u>2 meses – 2 años: 16 – 24 mmol/L</u> <u>&gt;2 años: 22 a 26 mmol/L</u>	mmol/L	Cuantitativa continua de razón
<b>Hormona paratiroidea</b>	Niveles de PTH en suero	Niveles de PTH en suero por quimioluminiscencia (DiaSorin LIAISON) <u>Valores normales:</u> <u>15 – 65 pg/mL</u>	pg/mL	Cuantitativa continua de razón
<b>25 OH Vit D</b>	Niveles de 25 hidroxivitamina D en suero	Niveles de 25 hidroxivitamina D en suero por quimioluminiscencia	ng/mL	Cuantitativa continua de razón

		(DiaSorin LIAISON) <u>Valores de referencia:</u> <u>Deficiencia:</u> <u>&lt;12ng/mL</u> <u>Insuficiencia:</u> <u>12 – 20 ng/mL</u> <u>Suficiencia:</u> <u>&gt;20ng/mL</u>		
<b>Osteocalcina</b>	Niveles de osteocalcina en suero	Niveles de osteocalcina en suero por quimioluminiscencia (DiaSorin LIAISON) <u>Valores normales no establecidos en edad pediátrica</u>	ng/mL	Cuantitativa continua de razón
<b>pH urinario</b>	Logaritmo negativo de la concentración de hidrogeniones en orina	Logaritmo negativo de la concentración de hidrogeniones en orina medido con potenciómetro	Sin unidades	Cuantitativa continua de razón
<b>Eritrocituria</b>	Conteo de eritrocitos en el sedimento urinario	Conteo de eritrocitos en sedimento urinario	Eritrocitos/mm <sup>3</sup>	Cuantitativa discreta
<b>Calciuria</b>	Contenido de calcio en orina	Contenido de calcio en orina de 24 horas entre el peso del paciente y cociente calcio/creatinina en orina de acuerdo a edad	mg/Kg/día	Cuantitativa continua de razón

<b>Magnesiuria</b>	Cociente de magnesio/ creatinina en orina	Cociente de citrato/creatinina en orina de acuerdo a edad <u>Valores normales:</u> <u>5 – 7 años :</u> <u>&gt;0.21mg/mg</u> <u>7 – 10 años:</u> <u>&gt;0.18mg/mg</u> <u>10 – 14 años:</u> <u>&gt;0.15mg/mg</u> <u>14 – 17 años:</u> <u>&gt;0.13mg/mg</u>	mg/mg	Cuantitativa continua de razón
<b>Uricosuria</b>	Cociente de ácido úrico/ creatinina en orina	Cociente de ácido úrico/ creatinina en orina de acuerdo a edad <u>Valores normales:</u> <u>5 – 10 años :</u> <u>&lt;0.9mg/mg</u> <u>&gt; ó = 10 años:</u> <u>&lt;0.6mg/mg</u>	mg/mg	Cuantitativa continua de razón
<b>Citraturia</b>	Cociente de citrato/creatinina en orina	Cociente citrato/creatinina en orina de acuerdo a edad <u>Valores normales:</u> <u>&gt;0.25mg/mg</u>	mg/mg	Cuantitativa continua de razón
			Normal Bajo	Cualitativa nominal dicotómica
<b>Oxaluria</b>	Cociente de oxalato/creatinina en orina	Cociente de oxalato/creatinina en orina de acuerdo a	mg/mg	Cuantitativa continua de razón

		<p>edad</p> <p><u>Valores normales:</u></p> <p><u>2 – 5 años:</u></p> <p><u>0.11mg/mg</u></p> <p><u>6 -12 años: 0.063</u></p> <p><u>mg/mg</u></p> <p><u>&gt;18 años: 0.031</u></p> <p><u>mg/mg</u></p>	<p>Normal</p> <p>Bajo</p>	<p>Cualitativa</p> <p>nomial</p> <p>dicotómica</p>
<p><b>Umbral máximo de reabsorción tubular de fosfatos por tasa de filtrado glomerular (RTP/TFG)</b></p>	<p>Concentración sérica de fosfatos en la cual empieza la aparición de fósforo en la orina</p>	<p>Concentración sérica de fosfatos en la cual empieza la aparición de fósforo en la orina (fósforo sérico- fósforo urinario x creatinina sérica /creatinina urinaria</p> <p><u>Valores normales:</u></p> <p><u>3.6 – 7.6mg/dL</u></p>	<p>mg/dL</p>	<p>Cuantitativa</p> <p>continua de intervalo</p>
<p><b>Calcio en la dieta</b></p>	<p>Cantidad de calcio contenido en la dieta</p>	<p>Cantidad obtenida a través del recordatorio de 24 horas con el software Food Processor Nutrition Analysis, dividido entre el peso corporal en Kg</p>	<p>mg/Kg</p>	<p>Cuantitativa</p> <p>continua de razón</p>
<p><b>Agua en la dieta</b></p>	<p>Cantidad de agua contenida en la dieta</p>	<p>Obtenido a través de recordatorio de 24 horas con el software Food</p>	<p>mL</p>	<p>Cuantitativa</p> <p>continua de razón</p>

		Processor Nutrition Analysis		
<b><i>Proteínas en la dieta</i></b>	Cantidad de proteínas contenidas en la dieta	Cantidad obtenida a través del recordatorio de 24 horas con el software Food Processor Nutrition Analysis, dividido entre el peso corporal en Kg	g/Kg	Cuantitativa continua de razón
<b><i>Sodio en la dieta</i></b>	Cantidad de sodio contenido en la dieta	Cantidad obtenida a través del recordatorio de 24 horas con el software Food Processor Nutrition Analysis, dividido entre el peso corporal en Kg	meq/Kg	Cuantitativa continua de razón
<b><i>Potasio en la dieta</i></b>	Cantidad de potasio contenido en la dieta	Cantidad obtenida a través del recordatorio de 24 horas con el software Food Processor Nutrition Analysis, dividido entre el peso corporal en Kg	meq/Kg	Cuantitativa continua de razón
<b><i>Tratamiento previo</i></b>	Uso de tratamiento con hidroclorotiazida o citrato de	Uso de tratamiento con hidroclorotiazida o citrato de potasio a cualquier dosis	Si / No	Cualitativa nominal dicotómica

	potasio previo al ingreso al estudio	previo al ingreso al estudio		
--	--------------------------------------	------------------------------	--	--

## Plan de análisis de los datos

Se llevará a cabo análisis de las variables para determinar la distribución de aquellas cuantitativas como son la DMO medida en valores Z, tanto corporal total como de columna lumbar y las diversas variables séricas y urinarias, a través de la prueba Shapiro – Wilk y en base a valores de asimetría y curtosis reflejados.

Se utilizará estadística descriptiva con medidas de tendencia central (media o mediana) y dispersión (desviación estándar o rango intercuartílico) de acuerdo a la normalidad de los datos cuantitativos.

Las variables cualitativas como la edad, el sexo, la presencia o ausencia de litiasis, antecedentes familiar de litiasis, se resumirán como frecuencia y porcentajes. Las diferentes variantes génicas o polimorfismos se reportaran como frecuencias y porcentajes para cada gen propuesto.

Para el análisis de correlación entre variables clínicas, bioquímicas y dietéticas de confusión y modificadoras del efecto con el desenlace DMO se realizarán pruebas de Spearman y Pearson de acuerdo a la distribución de cada una.

Se realizará comparación de frecuencia de presentación de variantes génicas reportadas entre el grupo con DMO normal y disminuida utilizando prueba exacta de Fisher. Se realizará el mismo análisis en aquellas variables de interés con escala nominal dicotómica y que se consideren directamente relacionadas a la DMO (tratamiento previo, litiasis urinaria e hipocitraturia).



## **Limitaciones del estudio**

Por la naturaleza descriptiva del estudio, sólo será posible caracterizar a la población sin poder determinar la causalidad entre las variables de estudio y resultado propuestas.

Pueden existir otros genes además de los que estudiaremos en este proyecto que participen en la fisiopatología de la HI.

El estudio es transversal, por lo que el impacto a largo plazo de la HI sobre la salud ósea no podrá ser evaluado.

## **Consideraciones éticas y confidencialidad.**

El proyecto se apega a las recomendaciones internacionales para Investigación en seres humanos, y al Reglamento de Investigación en Seres Humanos de la Ley General de Salud. En el estudio sólo participarán los pacientes cuyos padres o tutores otorguen el consentimiento informado por escrito, además del asentimiento de los niños participantes, que serán mayores de 8 años. (Anexo 1,2). Los pacientes o sus familiares conservarán una copia del mismo y se mantendrá la disponibilidad del personal médico para atender las dudas durante el proceso del protocolo.

Por los procedimientos a los que serán sometidos los pacientes, se considera de riesgo mayor que el mínimo, la realización de DXA implica exposición a radiación semejante a la de un día de sol, la toma de sangre puede producir dolor y flebitis en el sitio de toma. La cantidad de la muestra sanguínea no será mayor al límite establecido por el Reglamento de Investigación en Seres Humanos de la Ley General de Salud. Se considera un volumen total de sangre de 8mL.

Los resultados obtenidos del presente protocolo se proporcionarán a los pacientes y en caso de tener expediente en el HIMFG se enviará una copia al mismo. El beneficio que obtendrán es conocer si la hipercalciuria o litiasis que presentan es idiopática o no, y en caso de serlo sabrán el estado de salud ósea si está relacionada con alguno de los genes estudiados.

La información proporcionada por el paciente y sus familiares será de manejo exclusivo de los investigadores y se mantendrá en reserva en el expediente clínico y en los formatos de recolección de los datos del estudio. Los resultados serán analizados de manera grupal, no en forma de casos individuales, por lo que no se publicarán resultados individuales sino el comportamiento de grupos de acuerdo con los resultados obtenidos; los cuales serán manejados con claves asignadas a cada paciente para fines de análisis.

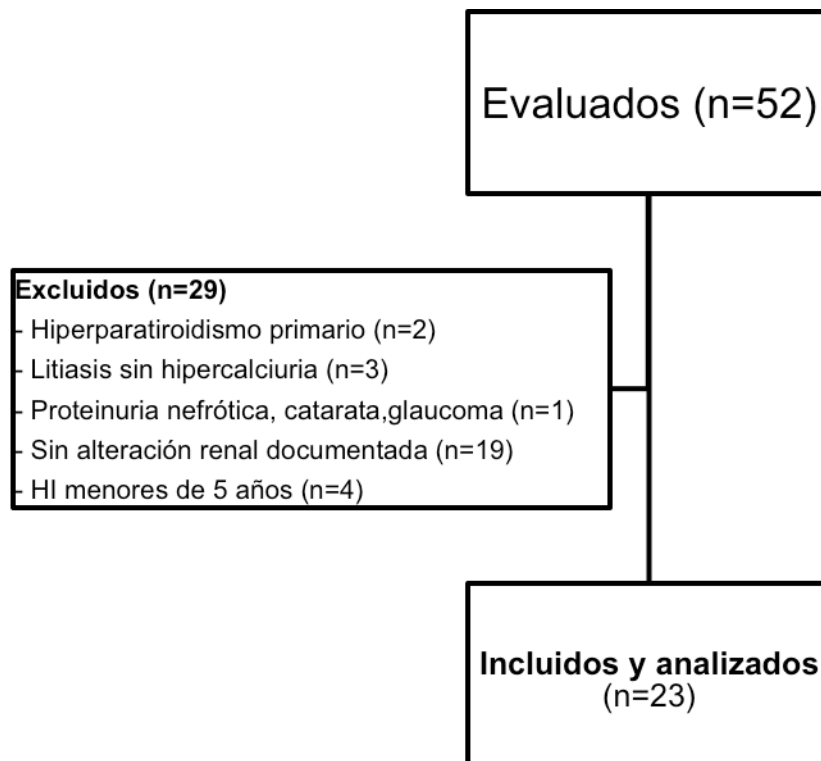
## **Consideraciones bioseguridad**

Para la manipulación tanto del material biológico como de los reactivos a emplear durante el desarrollo del proyecto será necesario utilizar de manera permanente elementos de protección personal, tales como bata, guantes y en algunos casos protectores como cubre bocas o lentes, mantenidos en buenas condiciones de higiene. Los desechos generados a partir de las muestras biológicas serán contenidos dentro de un recipiente rojo, específicamente para líquidos. Las puntas para micro pipetas, tubos, gasas, algodón, entre otros instrumentos que estuvieron en contacto con material biológico, se depositarán en un contenedor especialmente para desechos sólidos. En el caso de los desechos punzocortantes se colocarán en un solo recipiente rojo destinado para ese fin. Cada contenedor se encontrará debidamente etiquetado. En cuanto a otro tipo de desechos no biológicos empleados para el trabajo de laboratorio, se depositarán en un recipiente destinado a este tipo de productos.

## Resultados

Se examinaron para ser elegidos a 52 pacientes con sospecha clínica o de laboratorio de HI o bien con antecedente de litiasis confirmada, referidos o captados desde la consulta externa de Nefrología Pediátrica y Urología Pediátrica del HIM, de los cuales se confirmó el diagnóstico en 27. Se incluyeron al final 23 para el análisis completo, excluyendo a 4 casos de HI por ser menores de 5 años de edad.

**Figura 2. Diagrama de flujo del proceso de selección de la muestra**



Del total de la muestra incluida el 65.2% corresponde a hombres y 34.8% a mujeres, manteniendo una relación hombre – mujer de 1.8:1. Como parte de la sintomatología referida al diagnóstico o evolución de la enfermedad, la mayoría curso asintomático al diagnóstico y 26% con hematuria macroscópica, sólo dos casos asociados a infección de vías urinarias o alteraciones miccionales sin incluir

enuresis. Se presentó litiasis en 61% de los casos. Las características clínicas se muestran en la tabla 4 .

**Tabla 4. Características antropométricas y clínicas de niños con HI (n=23)**

<b>Características antropométricas y clínicas</b>	
<b>Valor Z de peso</b>	-1.5 (-1.9 – 0.4)
<b>Valor Z de talla</b>	-1.2 (-1.7 - -0.4)
<b>TA sistólica (mm/Hg)</b>	
<i>Preescolares</i>	93 (90 – 93)
<i>Escolares</i>	95 (87– 107)
<i>Adolescentes</i>	115 (102 – 115)
<b>TA diastólica (mm/Hg)</b>	
<i>Preescolares</i>	64 (60 – 64)
<i>Escolares</i>	60 (55 – 68)
<i>Adolescentes</i>	74 (58 – 74)

*Los datos son presentados como medianas y rango intercuartílico (p25, p75)*

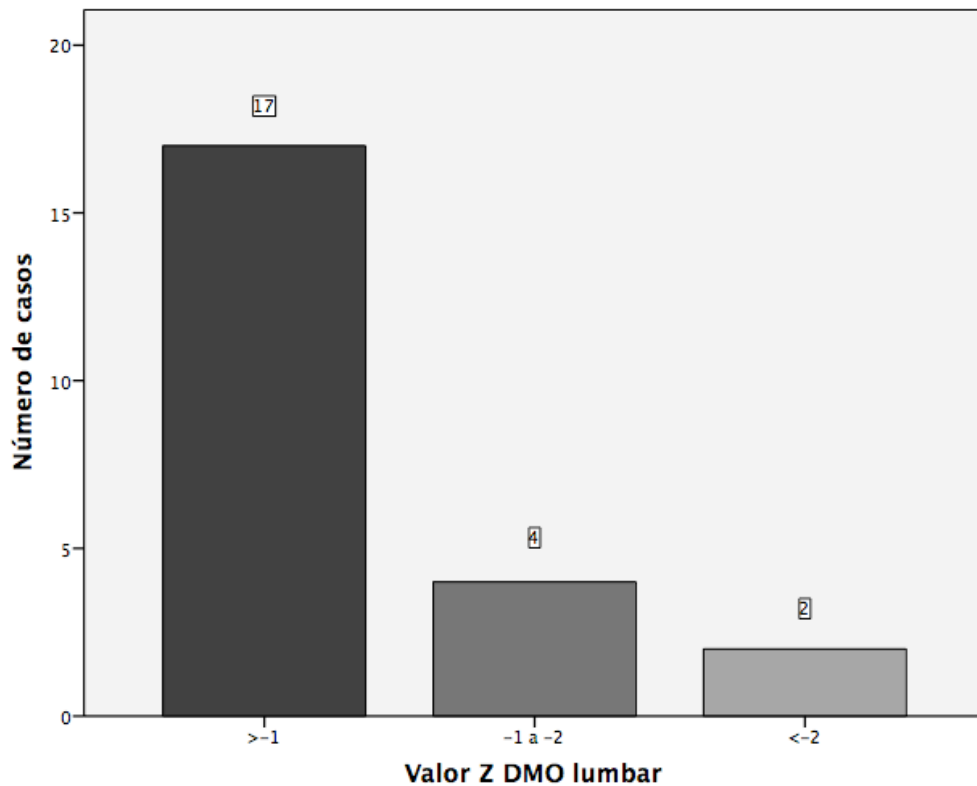
La función renal se encontró conservada en el 100% de casos con mediana de tasa de filtrado glomerular de 107 mLmin<sup>1.73m<sup>2</sup>SC</sup>; no se identificaron alteraciones electrolíticas. Se determinaron los niveles de 25 OH Vit D con mediana de 24.5 ng/mL (p25 19.2 , p75 28.2), siendo clasificados 7 pacientes (30.4%) con niveles considerados como deficientes o insuficientes, de los cuales 28.5% tienen DMO disminuida. No se ha identificado hipomagnesuria, hiperoxaluria o hiperuricosuria en ningún paciente que pudiera ser un factor de riesgo agregado para la formación de litiasis, pero llama la atención la presencia de citraturia con mediana de 0.38mg/mg (p25 0.28 y p75 0.63), con una proporción en la muestra de 21.7% con rangos considerados disminuidos de acuerdo a la edad, de los cuales 80% han cursado con litiasis renal en algún momento desde su diagnóstico.

Con respecto a otros parámetros bioquímicos de interés relacionado con el metabolismo óseo destaca FA con mediana de 277U/L (p25 207 y p75 319),

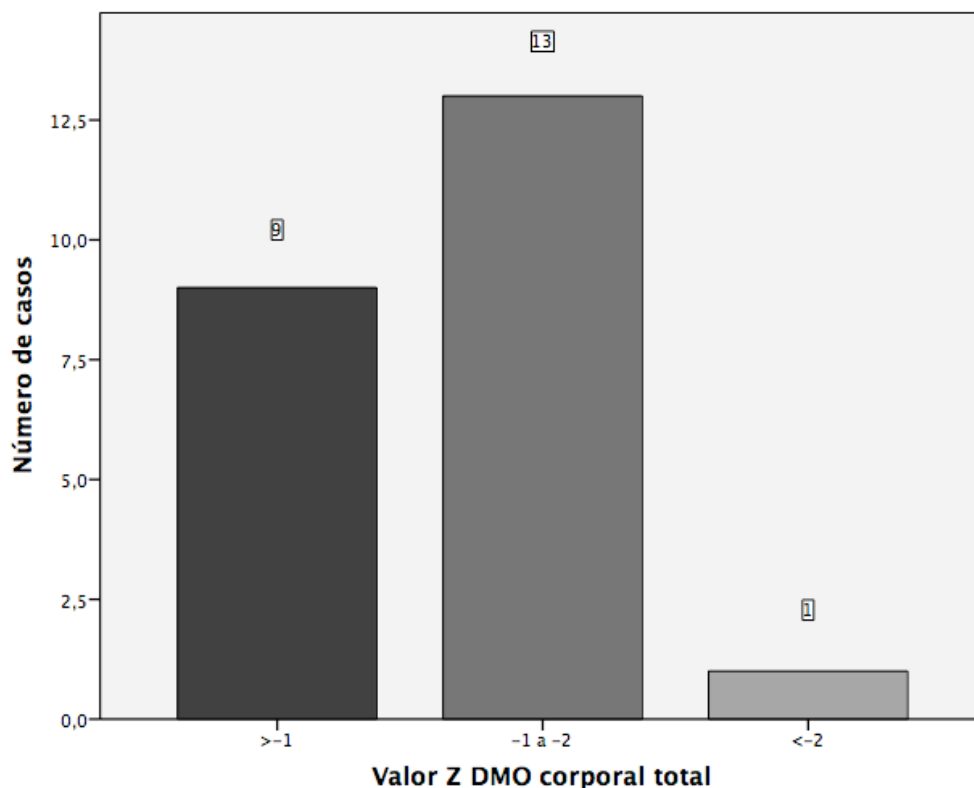
RTP/TFG de 4.4 mg/dL (p25 4.02 y p75 4.81), osteocalcina de 78.7 ng/mL (p25 63 y p75 124) y PTH de 12 pg/mL (p25 9.5 y p75 13.6).

Con respecto a la determinación de la DMO, la mediana del valor Z de columna lumbar L1-L4 es de -0.5 (p25 -1.1 y p75 -0.1) y valor Z corporal total menos cabeza con mediana de -1.2 (p25 -1.5 y p75 -0.4), considerando al 13% de la muestra dentro de rangos patológicos disminuidos de acuerdo al último consenso internacional con valor Z menor o igual a -2; 15 pacientes (65.2%) de la muestra mostraron un Valor Z menor o igual a -1 corporal total o lumbar. Considerando de manera individual a la medición lumbar, 6 (26.1%) de los individuos tiene un valor Z menor a -1 y sólo 8.7% menor a -2 (Gráfica 1); en el caso de la medición corporal total menos cabeza el 60.8% presenta valor Z menor a -1 y 4.3% menor a -2 (Gráfica 2). En ningún caso se tiene el antecedente de fracturas patológicas.

**Gráfica 1. Frecuencia de acuerdo a valor Z de DMO lumbar L1 a L4**



**Gráfica 2. Frecuencia de acuerdo a valor Z de DMO corporal total menos cabeza**



Al explorar la asociación existente entre ambas mediciones de DMO se encontró una correlación positiva entre ambas (Spearman  $r = 0.569$  ,  $p = 0.005$ ).

Se llevó acabo el análisis de correlación bivariada de Spearman entre variables bioquímicas y clínicas con los valores Z de DMO corporal total y lumbar. Existe asociación negativa entre los niveles de osteocalcina y la DMO corporal total menos cabeza, por el contrario encontramos una asociación positiva entre los niveles de 25 OH Vit D y DMO en la misma región, ambas correlaciones sin significancia estadística (Tabla 5).

**Tabla 5. Coeficientes de correlación de Spearman para cada variable relacionada con el valor Z de DMO corporal total menos cabeza y lumbar L1-L4 en niños con HI (n=23)**

<b>Parámetro bioquímico</b>	<b>Lumbar (L1-L4)</b>		<b>Corporal Total menos cabeza</b>	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
<b>FA (UI/L)</b>	0.289	0.182	-0.042	0.849
<b>PTH (pg/mL)</b>	0.286	0.186	0.22	0.314
<b>HCO<sub>3</sub> (meq/L)</b>	0.122	0.58	-0.072	0.746
<b>Osteocalcina (ng/mL)</b>	0.11	0.618	-0.407	0.054
<b>25 OH Vit D (ng/mL)</b>	0.042	0.849	0.382	0.072
<b>Ca/Cr urinario</b>	-0.127	0.562	-0.177	0.419
<b>Calciuria de 24 hrs</b>	0.068	0.842	0.069	0.841
<b>Cit/Cr urinario</b>	-0.13	954	-0.252	0.246

*FA – Fosfatasa alcalina total, PTH – Paratohormona, HCO<sub>3</sub> – Bicarbonato sérico, 25 OH Vit D – 25 hidroxivitamina D, Ca/Cr – Cociente calcio creatinina, Cit/Cr – Cociente citrato creatinina.*

*\*Datos con significancia estadística*

Debido a la inclusión tanto de casos prevalentes como incidentes, de los 23 individuos incluidos en la muestra, el 43.5% (10) se encontraba en tratamiento con hidroclorotiazida con dosis entre 0.5mgkgdía y 2mgkgdía; dos individuos (8.7%) además tenían tratamiento concomitante con citrato de potasio a dosis menor a 2 meqkgdía. Al llevar a cabo la comparación de la frecuencia entre niños en tratamiento con DMO normal o disminuida no se obtuvo diferencia significativa (p= 0.560 Prueba exacta de Fisher).

Se determinó la cantidad de sodio, potasio, proteínas y calcio en la dieta a través de recordatorios de 24 horas, realizados a los pacientes el día de su valoración. Todas las determinaciones fueron ajustadas al peso corporal de cada individuo. La ingesta de sodio fue de 3.92 meqKgdía (p25 2.53meqkgdía y p75 5.62meqkgdía), calcio de 27.2mgkgdía (p25 11mgkgdía y p75 33.8mgkgdía),

proteínas de 2.48 mgKgdía (p25 1.77 y p75 5.02) y potasio de 0.82 meqkgdía (p25 0.51 y p75 1.36). La mediana de ingesta de agua total por kilogramo en un día fue de 32.7 mLKgdía (p25 17.55 y p75 50). Se realizaron correlaciones bivariadas entre las variables de la dieta, con la magnitud de calciuria tanto en mgkgdía como en cociente Ca/Cr, así como con los valores Z de la DMO. En todos los casos sin tener una asociación significativa (Tabla 6).

**Tabla 6. Coeficientes de correlación de Spearman para variables de la dieta con la magnitud de calciuria, valor Z de DMO corporal total menos cabeza y lumbar L1-L4 en niños con HI (n=23)**

<b>Parámetro en la dieta</b>	<b>Lumbar (L1-L4)</b>		<b>Corporal Total menos cabeza</b>	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
<b>Calcio (mg/Kg de peso)</b>	-0.186	0.432	-0.152	0.522
<b>Proteína (g/Kg de peso)</b>	0.232	0.325	-0.102	0.67
<b>Sodio (meq/Kg de peso)</b>	-0.019	0.414	-0.194	0.414

*Todos los parámetros fueron considerados del recordatorio de 24 hrs*

*\*Datos con significancia estadística*

## ESTUDIO GENÉTICO

Se realizó la secuenciación de exoma completo en los 23 pacientes incluidos en la muestra, determinando variantes gánicas en cada gen considerado con relación al metabolismo del calcio.

En la siguiente tabla (Tabla 7), se muestran los polimorfismos identificados, así como la frecuencia en la muestra comparada con la reportada del estudio de genoma humano en población aparentemente sana con ancestría mexicana en los Ángeles, California (ensemble.org).



**Tabla 7. Comparación de la frecuencia de las variantes polimórficas identificadas en 23 pacientes con HI y la reportadas en población general**

Gen	Cr.	Variante	Frec. Muestra	Frec. GH MXL	p
<b>CASR</b>	3	<i>rs1042636</i>	0.3	0.33	0.61
		<i>rs12493789</i>	0.26	0.35	1.00
		<i>rs142818334</i>	0.04	0.008	0.28
		<i>rs1801725</i>	0.21	0.07	0.04*
<b>SCL34A3</b>	9	<i>rs202109348</i>	0.04	0.001	0.003*
		<i>rs28542318</i>	0.39	0.91	0.000*
		<i>rs34372115</i>	0.13	0.02	0.04*
<b>CLDN16</b>	3	<i>rs149116671</i>	0.04	0.05	1.00
		<i>rs3214506</i>	0.13	0.14	1.00
		<i>rs368234054</i>	0.08	0.15	0.52
<b>VDR</b>	12	<i>rs2228570</i>	0.21	0.51	0.01*

<sup>a</sup>Abreviaturas: Cr: Cromosoma, Frec: Frecuencia, GH: Genoma humano, MXL: Ancestría Mexicana en Los Ángeles California, CASR: Receptor Sensible a Calcio, SCL34A3: Proteína transportadora de sodio – fosfato, CLDN16: Claudina 16, VDR: Receptor de vitamina D

<sup>b</sup>Posición cromosómica en GRCh38.p12

<sup>c</sup>Valor p para prueba exacta de Fisher en todos los casos.

\*Datos con significancia estadística

Del total de variantes polimórficas identificadas, de acuerdo a lo reportado en la descripción fenotípica en estudios de genoma humano, la mayoría se catalogan como benignas o probablemente benignas, sólo dos de ellas (*rs202109348* y *rs34372115*) correspondientes al gen *SCL34A3* son consideradas como posiblemente patogénicas debido a su baja prevalencia en población general y a que hasta ahora no tienen ninguna descripción fenotípica identificada.

Para determinar la asociación existente entre la presencia o ausencia de cada una de las variantes identificadas con alteración o no de la DMO, se llevó a

cabo una comparación entre ambos grupos considerando a aquellos individuos de la muestra que fueran portadores del alelo de menor frecuencia de acuerdo a lo reportado en el estudio del genoma humano (ensembl.org). Se consideraron tanto a homocigotos como heterocigotos del alelo identificado como menos frecuente (Tabla 8).

**Tabla 8. Comparación entre polimorfismos y DMO en 23 pacientes con HI.**

VARIANTE	GEN	AMF	FAM DMO NL (n=20)	FAM DMO DISM. (n=3)	P
<i>rs1042636</i>	<b>CASR</b>	G	0.35	0	0.52
<i>rs12493789</i>		G	0.2	0.67	0.15
<i>rs142818334</i>		T	0.05	0	1.00
<i>rs1801725</i>		T	0.2	0.33	0.54
<i>rs202109348</i>	<b>SCL34A3</b>	A	0.05	0	1.00
<i>rs28542318</i>		T	0.45	0	0.25
<i>rs34372115</i>		A	0.1	0.33	0.35
<i>rs149116671</i>	<b>CLDN16</b>	G	0.05	0	1.00
<i>rs3214506</i>		C	0.15	0	1.00
<i>rs368234054</i>		A-	0.1	0	1.00
<i>rs2228570</i>	<b>VDR</b>	G	0.15	0.67	0.11

<sup>a</sup>Abreviaturas: AMF: Alelo de menor frecuencia, FAM: Frecuencia de alelo menor, DMO: Densidad Mineral Ósea, NL: Normal, Dism: Disminuida, CASR: Receptor Sensible a Calcio, SCL34A3: Proteína transportadora de sodio – fosfato, CLDN16: Claudina 16, VDR: Receptor de vitamina D

<sup>b</sup>Valor p para prueba exacta de Fisher en todos los casos.

\*Datos con significancia estadística

## Discusión

La hipercalciuria idiopática hasta ahora es considerada como una variante metabólica y no una patología por si misma (10), la cual tiene el potencial de desencadenar morbilidad caracterizada fundamentalmente por la presencia de litiasis urinaria y deterioro de la DMO, que depende de factores diversos como son la dieta, actividad física, ingesta de medicamentos y hormonas asociadas al metabolismo del calcio. En pacientes pediátricos, este comportamiento ha sido corroborado por diversos estudios observacionales tanto prospectivos como comparativos, haciendo especial énfasis en la disminución de la DMO (26, 27, 36, 38, 40, 41).

En cuanto a las características clínicas de este trabajo, llama la atención que la mayoría de los individuos cursó asintomático al momento del diagnóstico, a diferencia de lo reportado en otras series (26, 37) que refieren síntomas de irritación urinaria, hematuria o enuresis como los más frecuentes. Lo anterior es debido a que la hipercalciuria idiopática fue un hallazgo en pacientes inicialmente valorados por otras patologías como acidosis tubular renal o incluso en individuos sanos a los que se llevo a cabo estudios urinarios en los cuales se identificó hematuria microscópica. Esto plantea la posibilidad, hasta ahora no explorada de acuerdo a la literatura revisada, de considerar en estudios de tamizaje en población pediátrica la presencia de hipercalciuria idiopática, que aunque no es tan frecuente, su identificación temprana, puede evitar comorbilidades asociadas.

El papel de la 25 OH Vit D ha sido explorado en otras series (30), encontrándola como deficiente en 50% de casos de pacientes con DMO, a diferencia del presente estudio que sólo lo identificó en 28.5%.

Es importante recalcar el comportamiento de la osteocalcina como marcador de resorción ósea en niños con hipercalciuria idopática. En un estudio realizado por García Nieto y cols (26) se encontraron niveles más elevados en niños osteopénicos (sin diferencia estadísticamente significativa), comparados con

controles con DMO normal. De acuerdo a los hallazgos en esta serie, aunque no se obtuvo un número suficiente de individuos para realizar pruebas de diferencia de medias entre aquellos con DMO normal y disminuida, ni se cuenta con un grupo control, se tiene una correlación negativa entre los niveles de osteocalcina y el valor Z para DMO corporal total menos la cabeza con tendencia a ser estadísticamente significativa ( $p= 0.054$ ). Es posible que el papel de la osteocalcina pueda ser analizado en series longitudinales para determinar el riesgo de desarrollo de alteraciones en la mineralización en pacientes con hipercalciuria idiopática.

Los artículos reportados en niños, que analizan la asociación de hipercalciuria idiopática con DMO, proponen como disminución de la mineralización a todo valor  $Z < -1$ , sin embargo los estándares de reporte e interpretación de DXA señalados por la International Society for Clinical Densitometry (ISCD) (34, 35) en niños refiere como valor de Z crítico de DMO disminuida aquel  $< -2$ , por lo que para poder comparar los resultados con el resto de la literatura, se realizó un subanálisis el  $Z < -1$ , lo cual no es correcto.

El ajuste considerando el valor  $Z < -1$  como de corte, la frecuencia de mineralización disminuida es de 26.1% en columna lumbar que contrasta siendo menor con respecto a lo reportado por Gacía-Nieto y cols en España (26) de 30.1%, Freundlich y cols en Estados Unidos (40) de 38%, Penido y cols en Brasil (27) de 35% y Schwaderer en Estados Unidos (38) de 47%; así mismo mayor en comparación a Escribano y cols en España (36) siendo de 22.6% y semejante a lo reportado por Artemiuk en Polonia (30) de 25.8%. Las diferencias encontradas entre las diversas poblaciones pueden deberse a variaciones dietéticas, tratamientos concomitantes iniciados, específicamente con tiazidas y probablemente al factor racial y variaciones génicas, aunque esto no ha sido hasta ahora analizado en ninguna serie de hipercalciuria idiopática.

La medición del valor Z de DMO lumbar de L1 a L4 ha sido empleada en todos los estudios que analizan su comportamiento en pacientes con hipercalciuria, sin embargo para este estudio se realizó también la medición corporal total menos la cabeza, encontrando una correlación positiva entre ambas mediciones que es estadísticamente significativa. Sin embargo no es posible determinar cual es de mayor utilidad clínicamente, ya que se requeriría seguimiento a largo plazo para saber cual es mejor para predecir fracturas en la edad adulta. Sin embargo es posible que al incluir la totalidad del esqueleto en la corporal total menos cabeza, resulte un valor más exacto de la mineralización ósea y composición corporal, sobre todo ante factores que afecten de manera sistémica como pueden ser enfermedades crónicas concomitantes o uso de fármacos como esteroides y tiazidas.

Con respecto a los reportes de hipocitraturia y la presencia de litiasis concomitantes como factores asociados a DMO disminuida (26, 27, 38), ambos no fueron identificados en esta muestra posiblemente en relación al bajo número de individuos incluidos. Cabe señalar que la magnitud de la calciuria expresada en mg/Kg/día en orina de 24 horas y cociente Ca/cr no tuvo ninguna asociación con la DMO disminuida, al igual que lo publicado en todos los estudios revisados.

La dieta es un factor importante que puede comprometer la DMO en el contexto de hipercalciuria idiopática, ya que es la principal fuente de recuperación del calcio fugado por la orina. En este estudio no se encontró una correlación significativa entre la ingesta de Ca en 24 hrs y el valor Z de DMO tanto para columna lumbar como corporal total, al contrario se obtuvieron coeficientes de correlación negativos, lo cual no tiene plausibilidad biológica con respecto a mayor mineralización esperada ante una mayor ingesta de calcio. El sodio en la dieta al contrario si presentó coeficientes negativos con respecto a la DMO, aunque sin ser estadísticamente significativos.

Hasta ahora ninguna alteración génica ha sido vinculada directamente con el desarrollo de hipercalciuria idiopática, aunque se sabe que puede tener un comportamiento de herencia autosómico dominante (28, 40).

Los genes incluidos en este estudio fueron elegidos ya que su mutación ha sido documentada en otras entidades nosológicas que cursan con hipercalciuria tales como la hipomagnesemia e hipercalciuria familiar con nefrocalcinosis con y sin alteración ocular, alteración de CLDN16 y CLDN19 respectivamente; síndrome de Bartter tipo 5, con alteración de CASR; y raquitismo hipofosfatémico con hipercalciuria, con alteración de SLC34A3. Aunque la caracterización genética de los individuos incluidos fue adecuada mediante la secuenciación de exoma completo, resultan como grandes limitantes en este estudio, la ausencia de grupo control y el número total de muestra incluida, la cual no permite realizar asociaciones de las diferentes variantes encontradas con la DMO normal o disminuida. El incluir genes que hasta ahora se han asociado con variaciones en la densidad mineral ósea en niños (42) tales como el receptor alfa de estrógenos, receptor de andrógenos, COL1A1, COL1A2, Osteocalcina, Osteonectina y Osteopontina, podría esclarecer en pacientes con hipercalciuria la asociación causal entre su alteración y la DMO disminuida.

## Conclusiones

Considerando un valor Z de  $<-2$  como punto de corte, 13% de los pacientes con hipercalciuria idiopática tuvieron disminución en la DMO.

Si se utiliza un valor de corte para disminución de la DMO de  $Z < -1$  en columna lumbar L1-L4, encontramos 26.1% de niños con DMO disminuida, siendo similar a lo reportado en otras series pediátricas,

Del estudio genético realizado a los 23 pacientes, algunos polimorfismos como el rs1801725 del CASR y todos los correspondientes al gen SCL34A3 fueron significativamente más frecuentes en la población con HI que lo reportado en la literatura para población hispana en EUA, sin embargo no encontramos relación entre los polimorfismos genéticos estudiados y la DMO, pero el tamaño de muestra es muy pequeño.

Encontramos una correlación negativa entre osteocalcina sérica y disminución en la DMO.

Tuvieron deficiencia de 25OH vitamina D (valores  $<20\text{ng/ml}$ ) 30.4% de los niños con HI y de ellos 28.5% tuvo disminución en la DMO.

Es necesario realizar estudios con un mayor número de pacientes, incluir otros genes que pudieran participar en la DMO e idealmente tener un seguimiento a largo plazo que permita identificar a los pacientes que desarrollan fracturas.

## Bibliografía

1. Albright F, Henneman P, Benedict PH, Forbes AP. Idiopathic hypercalciuria: a preliminary report. Proceedings of the Royal Society of Medicine. 1953;46(12):1077-81.
2. Sas DJ, Hulsey TC, Shatat IF, Orak JK. Increasing incidence of kidney stones in children evaluated in the emergency department. The Journal of pediatrics. 2010;157(1):132-7.
3. Ryan LE, Ing SW. Idiopathic hypercalciuria and bone health. Curr Osteoporos Rep. 2012;10(4):286-95.
4. Fernandez P, Santos F, Gomez C, Cabeza JM, Rodriguez J, Rey C, et al. Influence of three different types of hypercalciuria on bone. An experimental study. Pediatric nephrology (Berlin, Germany). 1999;13(5):396-400.
5. Butani L, Kalia A. Idiopathic hypercalciuria in children--how valid are the existing diagnostic criteria? Pediatr Nephrol. 2004;19(6):577-82.
6. Hoppe B, Kemper MJ. Diagnostic examination of the child with urolithiasis or nephrocalcinosis. Pediatr Nephrol. 2010;25(3):403-13.
7. Pak CY, Sakhaee K, Moe OW, Poindexter J, Adams-Huet B, Pearle MS, et al. Defining hypercalciuria in nephrolithiasis. Kidney Int. 2011;80(7):777-82.
8. Pak CY, Kaplan R, Bone H, Townsend J, Waters O. A simple test for the diagnosis of absorptive, resorptive and renal hypercalciurias. N Engl J Med. 1975;292(10):497-500.
9. Srivastava T, Alon US. Pathophysiology of hypercalciuria in children. Pediatr Nephrol. 2007;22(10):1659-73.
10. Coe FL, Worcester EM, Evan AP. Idiopathic hypercalciuria and formation of calcium renal stones. Nat Rev Nephrol. 2016;12(9):519-33.
11. Garcia-Nieto V, Monge-Zamorano M, Gonzalez-Garcia M, Luis-Yanes MI. Effect of thiazides on bone mineral density in children with idiopathic hypercalciuria. Pediatric nephrology (Berlin, Germany). 2012;27(2):261-8.



12. Li XQ, Tembe V, Horwitz GM, Bushinsky DA, Favus MJ. Increased intestinal vitamin D receptor in genetic hypercalciuric rats. A cause of intestinal calcium hyperabsorption. *J Clin Invest.* 1993;91(2):661-7.
13. Favus MJ, Karnauskas AJ, Parks JH, Coe FL. Peripheral blood monocyte vitamin D receptor levels are elevated in patients with idiopathic hypercalciuria. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(10):4937-43.
14. Nicolaidou P, Themeli S, Karpathios T, Georgouli H, Athanassaki K, Xaidara A, et al. Family pattern of idiopathic hypercalciuria and its subtypes. *J Urol.* 1996;155(3):1042-4.
15. Moe OW, Bonny O. Genetic hypercalciuria. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16(3):729-45.
16. Segawa H, Aranami F, Kaneko I, Tomoe Y, Miyamoto K. The roles of Na/Pi-II transporters in phosphate metabolism. *Bone.* 2009;45 Suppl 1:S2-7.
17. Cools M, Goemaere S, Baetens D, Raes A, Desloovere A, Kaufman JM, et al. Calcium and bone homeostasis in heterozygous carriers of CYP24A1 mutations: A cross-sectional study. *Bone.* 2015;81:89-96.
18. Khaleel A, Wu MS, Wong HS, Hsu YW, Chou YH, Chen HY. A Single Nucleotide Polymorphism (rs4236480) in TRPV5 Calcium Channel Gene Is Associated with Stone Multiplicity in Calcium Nephrolithiasis Patients. *Mediators Inflamm.* 2015;2015:375427.
19. Liu K, Wang X, Ye J, Qin C, Shao P, Zhang W, et al. The G allele of CaSR R990G polymorphism increases susceptibility to urolithiasis and hypercalciuria: evidences from a comprehensive meta-analysis. *Biomed Res Int.* 2015;2015:958207.
20. Stechman MJ, Loh NY, Thakker RV. Genetic causes of hypercalciuric nephrolithiasis. *Pediatr Nephrol.* 2009;24(12):2321-32.
21. Milliner DS, Murphy ME. Urolithiasis in pediatric patients. *Mayo Clin Proc.* 1993;68(3):241-8.
22. Alon U, Warady BA, Hellerstein S. Hypercalciuria in the frequency-dysuria syndrome of childhood. *J Pediatr.* 1990;116(1):103-5.

23. Stojanovic VD, Milosevic BO, Djapic MB, Bubalo JD. Idiopathic hypercalciuria associated with urinary tract infection in children. *Pediatr Nephrol.* 2007;22(9):1291-5.
24. Alhava EM, Juuti M, Karjalainen P. Bone mineral density in patients with urolithiasis. A preliminary report. *Scand J Urol Nephrol.* 1976;10(2):154-6.
25. Malluche HH, Tschoepe W, Ritz E, Meyer-Sabellek W, Massry SG. Abnormal bone histology in idiopathic hypercalciuria. *J Clin Endocrinol Metab.* 1980;50(4):654-8.
26. Garcia-Nieto V, Ferrandez C, Monge M, de Sequera M, Rodrigo MD. Bone mineral density in pediatric patients with idiopathic hypercalciuria. *Pediatric nephrology (Berlin, Germany).* 1997;11(5):578-83.
27. Penido MG, Lima EM, Marino VS, Tupinamba AL, Franca A, Souto MF. Bone alterations in children with idiopathic hypercalciuria at the time of diagnosis. *Pediatric nephrology (Berlin, Germany).* 2003;18(2):133-9.
28. Garcia-Nieto V, Navarro JF, Monge M, Garcia-Rodriguez VE. Bone mineral density in girls and their mothers with idiopathic hypercalciuria. *Nephron Clin Pract.* 2003;94(4):c89-93.
29. Zerwekh JE. Bone disease and hypercalciuria in children. *Pediatric nephrology (Berlin, Germany).* 2010;25(3):395-401.
30. Artemiuk I, Panczyk-Tomaszewska M, Adamczuk D, Przedlacki J, Roszkowska-Blaim M. Bone Mineral Density in Children with Idiopathic Hypercalciuria. *Dev Period Med.* 2015;19(3 Pt 2):356-61.
31. Bushinsky DA. Recurrent hypercalciuric nephrolithiasis--does diet help? *N Engl J Med.* 2002;346(2):124-5.
32. Borghi L, Schianchi T, Meschi T, Guerra A, Allegri F, Maggiore U, et al. Comparison of two diets for the prevention of recurrent stones in idiopathic hypercalciuria. *N Engl J Med.* 2002;346(2):77-84.
33. Velasquez-Forero F, Esparza M, Salas A, Medeiros M, Toussaint G, Llach F. Risk factors evaluation for urolithiasis among children. *Boletin medico del Hospital Infantil de Mexico.* 2016;73(4):228-36.

34. Crabtree NJ, Arabi A, Bachrach LK, Fewtrell M, El-Hajj Fuleihan G, Keckskemethy HH, et al. Dual-energy X-ray absorptiometry interpretation and reporting in children and adolescents: the revised 2013 ISCD Pediatric Official Positions. *J Clin Densitom.* 2014;17(2):225-42.
35. Bachrach LK, Gordon CM, Section On E. Bone Densitometry in Children and Adolescents. *Pediatrics.* 2016;138(4).
36. Escribano J, Rubio-Torrents C, Ferre N, Luque V, Grote V, Zaragoza-Jordana M, et al. Reduced bone mass in 7-year-old children with asymptomatic idiopathic hypercalciuria. *Annals of nutrition & metabolism.* 2014;64(3-4):304-13.
37. Moreira Guimaraes 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. *Pediatric nephrology (Berlin, Germany).* 2012;27(1):123-30.
38. Schwaderer AL, Cronin R, Mahan JD, Bates CM. Low bone density in children with hypercalciuria and/or nephrolithiasis. *Pediatric nephrology (Berlin, Germany).* 2008;23(12):2209-14.
39. Skalova S, Palicka V, Kutilek S. Bone mineral density and urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase activity in paediatric patients with idiopathic hypercalciuria. *Nephrology (Carlton).* 2005;10(2):99-102.
40. Freundlich M, Alonzo E, Bellorin-Font E, Weisinger JR. Reduced bone mass in children with idiopathic hypercalciuria and in their asymptomatic mothers. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association.* 2002;17(8):1396-401.
41. Moreira Guimaraes Penido MG, de Sousa Tavares M. Bone disease in pediatric idiopathic hypercalciuria. *World journal of nephrology.* 2012;1(2):54-62.
42. Willing MC, Torner JC, Burns TL, Janz KF, Marshall T, Gilmore J, et al. Gene polymorphisms, bone mineral density and bone mineral content in young children: the Iowa Bone Development Study. *Osteoporos Int.* 2003;14(8):650-8.

## **Anexos**

### **Carta de consentimiento informado**

HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO "FEDERICO GÓMEZ"

#### **CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN**

**Título del estudio: "MINERALIZACIÓN ÓSEA Y GENES ASOCIADOS A  
HIPERCALCIURIA EN PACIENTES DEL HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO  
FEDERICO GÓMEZ"**

#### **Introducción**

Deseamos a invitarlo a participar en este estudio de investigación que se llevará cabo en el Hospital Infantil de México.

Su participación es voluntaria. Usted puede decidir no participar o puede retirarse del estudio en cualquier momento. En cualquier caso no perderá ninguna forma de atención médica en el Hospital.

La investigación puede proporcionar información que ayude, en el futuro inmediato, a otros niños con la misma enfermedad que la de su hijo(a).

Antes de decidir participar, lea con cuidado el presente documento y tómese el tiempo que requiera para realizar cualquier pregunta o discutir este estudio con cualquier persona que participe en la investigación, con su familia o con cualquier otro profesional de la salud.

#### **Finalidad del estudio**

La hipercalciuria es una enfermedad en la que se pierde calcio en la orina, esta condición aumenta el riesgo de la formación de piedras en los riñones, conocida como urolitiasis. Se ha reportado que 3 de cada 10 niños con hipercalciuria tienen la densidad de los huesos disminuida, lo cual puede además incrementar el riesgo de fracturas en la edad adulta.

Se cree que es una enfermedad hereditaria, de origen genético por lo que deseamos hacer un estudio cuidadoso a los pacientes con esta enfermedad que

incluya un estudio de los huesos y el estudio genético, para saber si ciertas variantes genéticas están relacionadas con mayor o menor daño al hueso.

### **Procedimiento del estudio**

Si usted acepta que su hijo participe en este estudio pasará lo siguiente:

Se hará un examen físico completo, con toma de sangre para medir calcio, fósforo, creatinina, calcio, fosfatos, magnesio, fosfatasa alcalina, ácido úrico, hormona paratiroidea, vitamina D, N-telopéptido y extracción de ADN (material genético), y orina para determinar examen general de orina, calcio, oxalato, fosfatos, creatinina, magnesio y citratos.

Se realizara el ultrasonido cuantitativo de radio (brazo) y tibia (pierna). También se hará una densitometría ósea, que si bien es un estudio que lleva radiación, es equivalente a tomar 2 horas de sol y no se considera peligroso.

### **Riesgos y molestias**

Las muestras de sangre se toman por punción venosa y su niño (a) presentará dolor en el sitio de la punción; este dolor cede en los siguientes minutos después de la punción.

### **Beneficios**

El beneficio que mi hijo(a) tendrá es que se conocerá con certeza si la pérdida de calcio en la orina ha afectado al hueso y podrá recibir el tratamiento más adecuado en forma oportuna. La información que se obtenga del estudio permitirá conocer mejor esta enfermedad y así proponer tratamientos a quienes padezcan hipercalciuria.

### **Procedimientos alternativos y costos**

La realización de la densitometría ósea, el ultrasonido de brazo y pierna así como los estudios de sangre mencionados anteriormente y tomados en una ocasión no tendrán costo para el paciente. No se solicita ultrasonido de brazo y pierna así como densitometría en forma rutinaria a los pacientes con hipercalciuria.

## **Accesibilidad de los investigadores y confidencialidad**

Los médicos que atienden a su hijo estarán en todo momento, dispuestos a responder a todas sus preguntas e inquietudes respecto a los resultados del estudio que se realizará a su hijo.

En todo momento se mantendrá la confidencialidad de los resultados de los exámenes practicados en la muestras de su hijo. Solamente usted y los médicos conocerán el resultado del estudio.

Durante el estudio usted recibirá información de los resultados que se vayan obteniendo del mismo con el fin de actualizar ante usted la información científica al respecto y que usted pueda tomar las decisiones siguientes con mayor fundamento.

Este estudio contempla el análisis de 7 genes que han sido involucrados en la enfermedad, pero el material genético de su hijo(a) será conservado en el Laboratorio de Investigación en Nefrología y Metabolismo Mineral por 10 años y podrán estudiarse otros genes si en ese tiempo se describen nuevos genes que participen en el padecimiento.

## **Problemas o preguntas**

Si surgiera algún problema o tuviese usted una pregunta con respecto a este estudio, a sus derechos como participante en la investigación o cualquier situación relacionada con la misma, debe comunicarse con los médicos que participan en este estudio:

Dra. Mara Medeiros, en el Laboratorio de Investigación en Nefrología y Metabolismo Mineral Óseo Hospital Infantil de México Federico Gómez, Tel. 52-28-99-17, extensión 4410

## **Documento de consentimiento**

Usted puede decidir no participar en el estudio, o bien decidir retirarse del estudio. En cualquier caso, no perderá ninguna prestación a la que tenga derecho. Le

sugerimos que conserve copia de este documento para consultarlo posteriormente.

He leído las explicaciones acerca de este estudio y se me ha dado la oportunidad de discutir las y de hacer preguntas. Por este medio otorgo mi consentimiento para participar en este estudio.

Nombre y firma del sujeto de estudio, padre, madre o tutor responsable del niño

-----  
-----

Dirección y teléfono -----

-----

Testigo: Nombre, dirección y relación con el niño; firma.

-----  
-----

Testigo: Nombre, dirección y relación con el niño; firma.

-----  
-----

Médico responsable: Nombre, posición en el Hospital, teléfono, firma.

-----

Nombre del Investigador principal en donde puede referir al familiar en caso de duda:

Dra. Mara Medeiros Domingo

Laboratorio de Investigación en Nefrología y Metabolismo Mineral Óseo

Tel. 52-28-99-17, Ext. 4410, 4410. Celular: 04455 14744239

## **Carta de asentimiento**

HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO "FEDERICO GÓMEZ"

### **CARTA DE ASENTIMIENTO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN**

**Título del estudio: "MINERALIZACIÓN ÓSEA Y GENES ASOCIADOS A HIPERCALCIURIA EN PACIENTES DEL HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ"**

#### **Introducción**

Queremos invitarte a participar en este estudio de investigación que se llevará cabo en el Hospital Infantil de México.

Tu participación es voluntaria. Puedes decidir no participar o puedes retirarte del estudio en cualquier momento. Esto no afectará tu atención en el Hospital.

La investigación puede proporcionar información que ayude, en el futuro, a otros niños con la misma enfermedad que tú tienes (hipercalciuria o pérdida de calcio en la orina).

#### **Finalidad del estudio**

La hipercalciuria es una enfermedad en donde se pierde calcio en la orina, esto puede hacer que hagas piedras en los riñones, que se conoce como urolitiasis. El calcio es muy importante para tener huesos fuertes y si se pierde por la orina el hueso puede hacerse débil y tener mayor riesgo de romperse cuando seas adulto. Se cree que es una enfermedad hereditaria, que pasa de padres a hijos a través de los genes. Queremos estudiar cómo están tus huesos con esta enfermedad y si se relaciona con alguna variación en tus genes.

#### **Procedimiento del estudio**

Si aceptas participar en este estudio pasará lo siguiente:

Te revisaremos tomando el peso, cuánto mides y la presión de la sangre. Tomaremos una muestra de sangre y de orina para medir el funcionamiento de tu riñón, y medir el calcio, y otras sustancias que son importantes para controlar el



calcio en el cuerpo. De esa muestra también sacaremos tus genes para estudiarlos.

También se hará ultrasonido en el brazo y en la pierna, para esto te ponen un gel y un aparato que toca tu piel sin lastimarte, así como una densitometría de hueso, en donde te acuestan en una cama y un aparato mide sin tocarte qué tan duros están tus huesos.

### **Riesgos y molestias**

Las muestras de sangre se toman con una aguja picando la vena y puede haber dolor en el sitio del piquete; este dolor se quita en los siguientes minutos después de la punción. En ocasiones puede quedar un pequeño moretón en el lugar del piquete.

El gel que se utiliza en el ultrasonido se siente frío pero no duele.

El cuarto donde se hace la densitometría también es frío porque el aparato necesita un ambiente fresco.

### **Beneficios**

El beneficio que tendrás es que sabremos con seguridad si el perder calcio en la orina ha hecho tus huesos débiles o no y darte recomendaciones para esto. También sabremos si tu enfermedad está relacionada con alguno de los genes que estudiaremos. La información que se obtenga del estudio permitirá conocer mejor esta enfermedad.

### **Procedimientos alternativos y costos**

La realización de los exámenes de sangre, la densitometría ósea y el ultrasonido de brazo y pierna no tendrán costo para tu familia.

### **Problemas o preguntas**

Si surgiera algún problema o tuvieses una pregunta con respecto a este estudio, debes comunicarte con los médicos que participan en este estudio: Dra. Mara Medeiros Domingo, en el Laboratorio de Investigación en Nefrología y

Metabolismo Mineral Óseo del Hospital Infantil de México Federico Gómez, Tel. 52-28-99-17, extensión 4410.

**Documento de asentimiento**

Puedes decidir no participar en el estudio, o bien decidir retirarte del estudio. En cualquier caso, no perderás ninguna prestación a la que tengas derecho.

He leído las explicaciones acerca de este estudio y se me ha dado la oportunidad de discutir las y de hacer preguntas. Por este medio otorgo mi asentimiento para participar en este estudio.

Nombre y firma del sujeto de estudio,

-----  
-----

Testigo: Nombre, dirección y relación con el niño; firma.

-----  
-----

Testigo: Nombre, dirección y relación con el niño; firma.

-----  
-----

Médico responsable: Nombre, posición en el Hospital, teléfono, firma.

-----  
-----

Nombre del Investigador principal, Dra. Mara Medeiros Domingo

Tel. 52-28-99-17, Ext. 4410 y 4407. Celular: 04455 14744239