



Original

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

Víctor M. García Nieto^{a,*}, Xochitl Illian Pérez Bastida^b, María Salvador Cañibano^c, Victoria E. García Rodríguez^c, Margarita Monge Zamorano^a y María Isabel Luis Yanes^a

^a Sección de Nefrología Pediátrica, Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria, Santa Cruz de Tenerife, España

^b Centro Medico Nacional La Raza, México

^c Hospital Universitario de Canarias, Tenerife

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 26 de marzo de 2017

Aceptado el 20 de julio de 2017

On-line el 14 de febrero de 2018

Palabras clave:

Urolitiasis

Calcio

Citrato

Riesgo litógeno

R E S U M E N

Antecedentes: En la urolitiasis intervienen diversos factores genéticos y ambientales. Las 2 anomalías metabólicas más frecuentes son el incremento en la eliminación urinaria de calcio y la reducción en la de citrato. El cociente calculado entre las concentraciones de ambas sustancias es un buen marcador de riesgo de formación de cálculos cálcicos.

Objetivos: Determinar si el riesgo litógeno en la orina de un mismo paciente cambia a lo largo del día.

Métodos: Se estudiaron 56 niños (23 V, 33 M) para comprobar si eran portadores de prelitiasis. Se determinaron las concentraciones de calcio, citrato y creatinina en 2 muestras de orina recogidas, una, antes de cenar, y la otra, por la mañana, al levantarse. Se anotó si tenían cálculos ecográficos y si existían antecedentes de urolitiasis en los familiares de primer y/o segundo grado.

Resultados: En 25 pacientes (44,6%) la ecografía renal fue positiva para litiasis (cálculos [n = 9] y microcálculos [n = 16]). En 40 de las 56 familias (71,4%) existían antecedentes de urolitiasis. El porcentaje mayor de valores anormales de la concentración urinaria de calcio (28,6%) y del cociente calcio/citrato (69,6%) correspondió a la primera orina del día. Este último parámetro fue el único entre los estudiados que se relacionó con los antecedentes familiares de urolitiasis. No se comprobaron diferencias en los parámetros urinarios al comparar a los pacientes con presencia o ausencia de litiasis renal ecográfica.

Conclusiones: Las concentraciones urinarias de calcio y del cociente calcio/citrato se modifican a lo largo del día. Las orinas formadas durante la noche son más litógenas.

© 2017 Sociedad Española de Nefrología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: vgarcianieto@gmail.com (V.M. García Nieto).

<https://doi.org/10.1016/j.nefro.2017.07.004>

0211-6995/© 2017 Sociedad Española de Nefrología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Quantification of the risk of urinary calcium stone formation in the urine collected at 2 times of the day in a group of children studied to rule out prelithiasis

ABSTRACT

Keywords:

Urolithiasis
Calcium
Citrate
Urinary stone risk

Background: Various genetic and environmental factors are involved in urolithiasis. The 2 most common metabolic abnormalities are the increase in urinary calcium and low urinary citrate excretion. The ratio calculated between the concentrations of both substances is a good risk marker for the formation of calcium stones.

Objectives: To determine whether the risk of urinary calcium stone formation changes throughout the day in the same patient.

Methods: We studied 56 children (23 V, 33 M) to check if they had prelithiasis. Calcium, citrate, and creatinine concentrations were determined in two urine samples collected one before dinner and the other in the morning. It was collected if they had ultrasound stones and if there was a history of urolithiasis in first and/or second degree relatives.

Results: In 25 patients (44.6%), renal ultrasound was positive for lithiasis (stones [n=9] and microlithiasis [n=16]). Forty of the 56 families (71.4%) had a history of urolithiasis. The percentage of abnormal urinary calcium (28.6%) concentrations and an abnormal calcium/citrate ratio (69.6%) was higher in the first urine of the day. The calcium/citrate ratio was the only studied parameter that was related to a family history of urolithiasis. There were no differences in urinary parameters between patients with and without ultrasound-confirmed kidney stones.

Conclusions: Urinary concentrations of calcium and the calcium/citrate ratio vary throughout the day. Urine produced at night has a higher risk of urinary calcium stone formation.

© 2017 Sociedad Española de Nefrología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

En 1939, Randall describió que los cálculos renales se expresan clínicamente después de un tiempo de crecimiento, por lo que existe un periodo de duración más o menos prolongado al que denominó de «silencio sintomático»¹. Este espacio de tiempo en el que están ausentes los síntomas propios de la expulsión de los cálculos es propio, aunque no exclusivo, de la edad pediátrica y se conoce como prelitiasis²⁻⁴. Los niños con prelitiasis pueden diagnosticarse al mostrar síntomas diversos tales como hematuria macro o microscópica, infección urinaria, incontinencia y otros trastornos miccionales, disuria, emisión de orinas turbias o dolor abdominal repetitivo^{3,4}.

Desde hace años se conoce que en la composición de la orina están presentes diversas sustancias que favorecen o inhiben la litogénesis. Las 2 anomalías metabólicas que se detectan con más frecuencia, tanto en la prelitiasis como cuando ha concurrido ya una clínica específica, son el incremento en la eliminación urinaria de calcio y la reducción en la de citrato. Desde 1964, se conoce que el cociente calculado entre las concentraciones urinarias de ambas sustancias es un buen marcador de riesgo de formación de cálculos que contienen calcio, cuando es superior a 0,33 mg/mg⁵. Este dato ha sido confirmado posteriormente en varios artículos sobre el tema⁶⁻⁸.

Por primera vez en la literatura pediátrica, hemos querido investigar en un grupo de niños estudiados para comprobar si eran portadores de prelitiasis, si la composición urinaria

se modifica cuando se cuantifica en orinas recogidas en 2 momentos distintos del día.

Pacientes y métodos

Estudio ambispectivo transversal en el que se incluyeron 56 niños (23 V, 33 M) que fueron estudiados para comprobar si eran portadores de una situación de prelitiasis. Los pacientes acudieron a las consultas externas de Nefrología Pediátrica del Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria entre enero y noviembre de 2015. Su edad media era

Tabla 1 – Manifestaciones clínicas iniciales de los pacientes estudiados

Clínica	n
Infecciones del tracto urinario	11
Dolor abdominal/cólico nefrítico	9
Anomalías funcionales vesicales ^a	8
Asintomático (estudio por antecedentes familiares de litiasis y/o hipercalciuria)	7
Anomalías morfológicas de la vía urinaria ^b	8
Hematuria macro o microscópica	5
Disuria	5
Varios ^c	3

^a Vejiga hiperactiva (n = 3), incontinencia urinaria (n = 3), enuresis nocturna (n = 2).

^b Ectasia piélica (n = 5), reflujo vesicoureteral (n = 3).

^c Síndrome nefrótico idiopático en remisión (n = 2), fracturas (n = 1).

de $10,1 \pm 3,5$ años (rango: 3,5-18 años). Ninguno de ellos recibía tratamiento farmacológico. Las características clínicas por las que fueron estudiados se exponen en la [tabla 1](#).

Recopilación de datos

Se determinaron las concentraciones de calcio, citrato y creatinina en 2 muestras de orina recogidas, una, antes de cenar, y la otra, por la mañana (primera orina del día). Se anotó si eran portadores de cálculos o microcálculos ecográficos y si existían antecedentes de urolitiasis en sus familiares de primer o segundo grado.

Determinaciones urinarias y ecografía renal

La orina recogida por la noche se guardó en nevera. En el laboratorio, ambas muestras fueron homogeneizadas, acidificadas y atemperadas con la intención de disolver los cristales presuntamente formados. La creatinina se determinó mediante una prueba cinética colorimétrica basada en el método de Jaffé (*Creatinine Jaffé Gen.2. Roche*). El calcio se cuantificó por fotometría (*Calcium Gen.2. Roche*). La citraturia se midió por medio de una técnica enzimática colorimétrica (*LTA*). Todas estas determinaciones se realizaron en un *analizador Cobas c501* (Analyzer Roche Diagnostics). Las ecografías renales fueron realizadas por un radiólogo pediátrico con un ecógrafo *MyLab25Gold* para evitar la variabilidad interobservador. Se definieron los cálculos cuando su tamaño era superior a 3 mm y se observaba una sombra sónica, y los microcálculos, cuando se apreciaron partículas hiperecogénicas en los cálices renales inferiores a 3 mm de diámetro y, en general, desprovistos de conos de sombra⁹.

Valores normales

Para evaluar los resultados obtenidos se utilizaron los criterios de Grases et al., que establecen que una orina es potencialmente litógena si la concentración de calcio es mayor de 27 mg/dl, la de citrato inferior a 230 mg/l o el valor del cociente calcio/citrato superior a 0,33 mg/mg^{7,10}.

Análisis estadístico

Se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para examinar la distribución de la muestra y se realizó una estadística básica. Todas las variables estudiadas mostraron una distribución normal. Para la evaluación de diferencias entre variables cuantitativas, se utilizó la prueba de la t de Student para muestras independientes o para muestras relacionadas, según procediera. Para estudiar la diferencia entre variables cualitativas se utilizó la prueba exacta de Fisher. Valores de probabilidad inferiores a 0,05 fueron considerados significativos. Estos análisis se realizaron con el paquete estadístico SPSS (SPSS v. 19.0, SPSS Inc., EE. UU.).

Resultados

En 25 pacientes (44,6%) la ecografía renal fue positiva para litiasis. Así, en las de 9 de ellos se observaron cálculos y en las

Tabla 2 – Antecedentes familiares de urolitiasis

Antecedentes familiares	n
Primer grado ^a	8
Segundo grado ^b	22
Primero y segundo grados	10

^a Padre (n=6), madre (n=2).
^b Abuelo o abuela paternos (n=4), abuelo o abuela maternos (n=4), tíos paternos (n=8), tíos maternos (n=2), varios (n=4).

de los 16 restantes, microcálculos. El inicio clínico más frecuente fue en forma de infección de vías urinarias (n=11), dolor abdominal (n=9) y alteraciones funcionales vesicales (n=8) ([tabla 1](#)). En 40 de las 56 familias (71,4%) se registraron antecedentes familiares de urolitiasis ([tabla 2](#)).

En la [tabla 3](#) se muestran los valores urinarios correspondientes a la orina recogida por la noche (antes de la cena) y a la primera orina del día. El porcentaje mayor de valores anormales de la concentración urinaria de calcio (28,6%) y del cociente calcio/citrato (69,6%) correspondieron a la primera orina del día. Se comprobaron diferencias estadísticamente significativas en ambos parámetros al comparar los valores propios de ambas muestras de orina ([tabla 3](#)).

No se observaron diferencias en la edad ni en los parámetros urinarios estudiados al distribuir a los pacientes en función de la presencia o ausencia de litiasis ecográfica ([tabla 4](#)). No obstante, en 19 de los 25 casos (76%) con litiasis ecográfica estuvo presente algún marcador de riesgo litógeno; en 17 de esos 19, estaba elevado el cociente calcio/citrato en primera orina del día de forma aislada (n=6) o asociado a otros parámetros (n=11).

Asimismo, se compararon las variables estudiadas con los antecedentes familiares de litiasis. Se observó que el cociente calcio/citrato cuantificado en la primera orina del día fue el único parámetro estudiado que se relacionó con dichos antecedentes ([tabla 5](#)). La presencia de litiasis ecográfica no se relacionó con los antecedentes familiares de urolitiasis.

Discusión

Los componentes más importantes que integran la estructura de los cálculos renales se conocen desde finales del siglo XVIII y principios del XIX debido, inicialmente, a los trabajos de Antoine François Fourcroy y Louis Nicolas Vauquelin^{11,12}. Aparte de los cálculos en cuya composición figuran la cistina, el ácido úrico y el fosfato amónico magnésico (estruvita), en el resto se observa con asiduidad en su constitución la presencia del ion calcio, ya sea en forma de fosfato (hidroxapatita, brushita), oxalato monohidrato (whewellita), oxalato dihidrato (wheddellita) o carbonato. El calcio es, pues, uno de los promotores más importantes en la formación de los cálculos renales.

El ácido cítrico, como el ácido oxálico, fue descubierto por Scheele². A mediados del siglo XIX ya se apreciaron sus propiedades como inhibidor de la cristalización. Así, Spiller aprendió que el ácido cítrico tenía una capacidad especial de mantener en solución al calcio. En presencia de citrato, el calcio no era precipitado por carbonato, fosfato ni oxalato; cuando algunos de estos precipitados se formaban, podían ser llevados

Tabla 3 – Resultados obtenidos en la orina recogida por la noche (antes de cenar) y en la primera orina del día

		Pacientes con riesgo litógeno
[Ucalcio] mg/dl (orina de la noche) ^a	14,14 ± 11,65	8/56 (14,3%) ^a
[Ucitrato] mg/l (orina de la noche)	424,39 ± 244,69	13/56 (23,2%) ^b
[Ucalcio/Ucitrato] (orina de la noche) ^{**}	0,38 ± 0,33	21/56 (37,5%) ^c
[Ucalcio] mg/dl (primera orina del día) ^a	19,23 ± 12,82	16/56 (28,6%) ^a
[Ucitrato] mg/l (primera orina del día)	387,63 ± 202,52	13/56 (23,2%) ^b
[Ucalcio/Ucitrato] (primera orina del día) ^{**}	0,53 ± 0,34	39/56 (69,6%) ^c

^a Riesgo litógeno > 27 mg/dl.
^b Riesgo litógeno < 230 mg/l.
^c Riesgo litógeno > 0,33 mg/mg.
* p = 0,02.
** p < 0,001.

Tabla 4 – Resultados correspondientes a la edad y a los parámetros urinarios estudiados al distribuir a los pacientes en función de la presencia o ausencia de litiasis ecográfica

	Litiasis ecográfica (n = 25) (9V, 16 M)	Ecografía renal normal (n = 31) (14V, 17M)	p
Edad (años)	10,28 ± 3,31	9,88 ± 3,66	ns
[Ucalcio] mg/dl (orina de la noche)	13,42 ± 8,70	14,72 ± 13,69	ns
[Ucitrato] mg/l (orina de la noche)	440,64 ± 253,79	411,29 ± 240,51	ns
[Ucalcio/Ucitrato] (orina de la noche)	0,37 ± 0,27	0,39 ± 0,38	ns
[Ucalcio] mg/dl (primera orina del día)	16,71 ± 8,83	21,26 ± 15,14	ns
[Ucitrato] mg/l (primera orina del día)	364,80 ± 191,18	406,03 ± 212,52	ns
[Ucalcio/Ucitrato] (primera orina del día)	0,53 ± 0,28	0,54 ± 0,38	ns

M: mujer; ns: no significativo; V: varón.

Tabla 5 – Relación entre las variables urinarias determinadas o calculadas y los antecedentes familiares de litiasis renal

	Valores anormales/antecedentes familiares de litiasis positivos	Valores anormales/antecedentes familiares de litiasis negativos	p
[Ucalcio] (mg/dl) elevado ^a	6/40	2/16	ns
[Ucitrato] (mg/l) reducido ^a	10/40	3/16	ns
[Ucalcio/Ucitrato] elevado ^a	15/40	6/16	ns
[Ucalcio] mg/dl (elevado) ^b	12/40	4/16	ns
[Ucitrato] (mg/l) (reducido) ^b	11/40	2/16	ns
[Ucalcio/Ucitrato] elevado ^b	32/40	7/16	0,01

ns: no significativo.
^a Orina recogida por la noche, antes de cenar.
^b Primera orina del día.

nuevamente a solución tras la adición de citrato¹³. Entrado el siglo xx, se demostró que la citraturia podía ser un marcador de la situación del equilibrio ácido-base corporal. Así, Östberg describió, por primera vez, que la eliminación de citrato en la orina humana aumenta cuando existe alcalosis metabólica y, a la inversa, disminuye en los casos de acidosis¹⁴. Posteriormente, se supo que la hipocitraturia es una de las principales causas en la formación de los cálculos¹⁵. El tratamiento con citrato se convertiría, con el paso del tiempo, en uno de los métodos más eficaces para prevenir la formación litiásica^{16,17}. Incluso, en 1960, Bibus y Luis Cifuentes demostraron que el tratamiento farmacológico con citrato permitía que los cálculos de ácido úrico desapareciesen¹⁸.

Los cocientes o índices urinarios calculados con respecto a la creatinina son una prueba funcional simple de gran utilidad en el ámbito pediátrico, dada la dificultad de la recogida de muestras de orina horarias y puesto que no precisan una extracción sanguínea concomitante¹⁹. No obstante, es preciso recordar que los valores para un mismo parámetro pueden

modificarse con la edad –son más elevados en lactantes y niños pequeños– y las cifras de normalidad pueden variar según el momento del día en el que se recoja la muestra. En nuestro estudio, no se calcularon los cocientes urinarios correspondientes al calcio y al citrato por la dificultad en definir los valores de normalidad en los 2 tipos de muestras recogidas y porque no era el objetivo del trabajo.

La orina es un sistema metaestable en el que coexisten varias sustancias con capacidad de cristalizar y, por ende, de generar partículas sólidas. Normalmente, esas sustancias se encuentran en condiciones sobresaturadas, por lo que la facilidad con la que se inicia el proceso de cristalización depende del grado de sobresaturación, de la presencia de sustancias favorecedoras (nucleantes heterogéneos) y de los niveles de los inhibidores de la cristalización⁷. Cuando las concentraciones de los factores promotores e inhibidores están balanceadas, no se produce la formación de cristales. Esta ocurre cuando coincide una combinación desfavorable entre las sustancias favorecedoras y las inhibidoras¹⁰.

El cociente calcio/citrato estudia de un modo sencillo ese desbalance y ofrece la gran ventaja de que no está influido por la edad, el sexo ni el momento del día de recogida de la muestra⁸. Así, DeFoor et al. señalaron que el cociente calcio/citrato calculado, no obstante, en orina de 24 h es el mejor parámetro para evaluar el riesgo en la formación de cálculos recurrentes en niños en cuya constitución se incluye el ion calcio²⁰.

Nuestro estudio confirma que la composición de la orina varía a lo largo del día (tabla 3), como ocurre con otros parámetros corporales, por lo que la orina de 24 h se comporta como un *totum revolutum* que no deja vislumbrar los cambios importantes que se producen en la composición urinaria a lo largo del día, especialmente por la noche^{2,21}. En nuestro estudio hemos confirmado como el porcentaje mayor de valores anormales de la concentración urinaria de calcio y del cociente calcio/citrato se registran en la primera orina del día. Bergsland et al. confirmaron que los sujetos con hiper calciuria idiopática excretan más calcio por la noche en la misma cantidad de orina en relación con los controles, con el consiguiente acrecentamiento en el riesgo de formar cálculos. Esos autores indicaron que la diferencia en la cuantificación de la supersaturación de los pacientes con hiper calciuria idiopática, en relación con los controles, fue de 7,65 para el oxalato y de 1,78 para el fosfato cálcicos²². Esta elevación en la concentración de calcio de la orina de la noche debe estar relacionada con el aumento en la resorción ósea descrito en la hiper calciuria idiopática²³⁻²⁵, que se suma, además, al incremento fisiológico nocturno de la resorción ósea^{26,27}.

En nuestro estudio, la citraturia descendió levemente pero no de forma significativa en la primera orina del día (tabla 3), a pesar de la tendencia a una situación de acidosis metabólica motivada por la degradación, debida al ayuno nocturno, de los ácidos grasos a acetyl-CoA y la consiguiente formación de cuerpos cetónicos. Como hemos indicado más arriba, la citraturia desciende en situaciones de acidosis^{14,28}. Esa tendencia acidótica se subsana gracias a los mecanismos fisiológicos circadianos de regulación del equilibrio ácido-base que se inician con la activación del intercambiador Na⁺-H⁺ (NHE3: *sodium-hydrogen antiporter 3*) que se expresa en el túbulo proximal renal^{29,30}. Esa reducción leve de la citraturia antes mencionada, quizás contribuyó someramente al incremento del valor del cociente calcio/citrato observado en la primera orina del día. Con respecto a este último parámetro, es llamativo que fuera el único relacionado con los antecedentes familiares de urolitiasis (tabla 5). Este hecho revela que en la orina formada por la noche, fuera de las interferencias cotidianas propias de la dieta, es más evidente la influencia de las condiciones genéticas de las que los pacientes son portadores.

No debe extrañar que la ausencia o existencia de litiasis ecográfica no se relacionara con la edad, los parámetros urinarios estudiados (tabla 4) ni con los antecedentes familiares de urolitiasis. El mecanismo de formación de los cálculos es complejo y depende de muchos factores ambientales y genéticos. Es conocido, por ejemplo, que la orina contiene otros inhibidores de la cristalización, algunos de los cuales son independientes de la dieta³¹. No obstante, los resultados obtenidos pueden estar limitados por el tamaño muestral.

La consecuencia práctica de este estudio es la reflexión de que la actividad litógena no es similar a lo largo del día. En

el periodo nocturno se produce la conservación renal máxima de agua y en los pacientes litiasicos o prelitiasicos se eleva, además, el cociente calcio/citrato, por lo que ese espacio de tiempo debe ser el objetivo inicial terapéutico en el momento en el que se intente realizar una intervención clínica específica dietética o farmacológica de tipo preventivo.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

- Randall A. The etiology of primary renal calculus. Proceedings of the VII Congress of the International Society of Urology. New York, 1939. p. 209-40.
- García-Nieto V, Luis-Yanes MI. El nefrólogo y la litiasis. ¿La toma o la deja? *Nefrologia*. 2013;33:155-9.
- Cervera A, Corral MJ, Gómez Campdera FJ, de Lecea AM, Luque A, López Gómez JM. Idiopathic hypercalciuria in children. Classification, clinical manifestations and outcome. *Acta Paediatr Scand*. 1987;76:271-8.
- Escribano J, Balaguer A, Martin R, Feliu A, Espax R. Childhood idiopathic hypercalciuria—Clinical significance of renal calyceal microlithiasis and risk of calcium nephrolithiasis. *Scand J Urol Nephrol*. 2004;38:422-6.
- Hodgkinson A. The aetiology and treatment of urinary calculus. *Postgrad Med J*. 1964;40:130-5.
- Höbarth K, Hofbauer J. Value of routine citrate analysis and calcium/citrate ratio in calcium urolithiasis. *Eur Urol*. 1991;19:165-8.
- 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;263:43-55.
- Srivastava T, Winston MJ, Auron A, Alon US. Urine calcium/citrate ratio in children with hypercalciuric stones. *Pediatr Res*. 2009;66:85-90.
- La Manna A, Polito C, Cioce F, de Maria G, Capacchione A, Rocco CE, et al. Calyceal microlithiasis in children: Report on 196 cases. *Pediatr Nephrol*. 1998;12:214-7.
- Grases F, Costa-Bauzá A, Prieto RM, Arrabal M, de Haro T, Lancina JA, et al. Urinary lithogenesis risk tests: Comparison of a commercial kit and a laboratory prototype test. *Scand J Urol Nephrol*. 2011;45:312-8.
- Fourcroy AF, Vauquelin N. Sur l'analyse des calculs urinaires humains. *Ann Chim*. 1799;32:213-22.
- Fourcroy AF, Vauquelin N. Memoire sur l'analyse des calculs urinaires humains, et sur les divers matériaux qui les forment. Paris: Mém. de l'Inst. (IV); 1803. p. 112-50.
- Cifuentes Delatte L. El tratamiento alcalinizante como preventivo de la litiasis oxalocálcica recidivante. *Arch Esp Urol*. 1991;44:903-10.
- Östberg O. Studien jiber die zitronensaureausscheidung der menschenniere in normalen und pathologischen zustanden. *Skand Arch Physiol*. 1931;62:81-222.
- Torres A, Balaguer G, Suria S, Concepción MT, Valido P, Lorenzo V, et al. Hipocitraturia en la nefrolitiasis cálcica: su incidencia en las formas hiper calciúricas y normocalciúricas. *Nefrologia*. 1990;10:154-9.
- Barcelo P, Wuhl O, Servitge E, Rousaud A, Pak CY. Randomized double-blind study of potassium citrate in idiopathic hypocitraturic calcium nephrolithiasis. *J Urol*. 1993;150:1761-4.

17. Robinson MR, Leita VA, Haleblan GE, Scales CD Jr, Chandrashekar A, Pierre SA, et al. Impact of long-term potassium citrate therapy on urinary profiles and recurrent stone formation. *J Urol*. 2009;181:1145-50.
18. Cifuentes L, Arce F. Disparition d'images de calculs rénaux d'acide urique lors d'un traitement alcalinisant. *J Urol Medicale Chir*. 1960;66:264-70.
19. Nordin BE. Assessment of calcium excretion from the urinary creatinine ratio. *Lancet*. 1959;2:368-71.
20. 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;179:2369-72.
21. Robert M, Roux JO, Bourelly F, Boularan AM, Guitier J, Monnier L. Circadian variations in the risk of urinary calcium oxalate stone formation. *Br J Urol*. 1994;74:294-7.
22. Bergsland KJ, Coe FL, Gillen DL, Worcester EM. A test of the hypothesis that the collecting duct calcium-sensing receptor limits rise of urine calcium molarity in hypercalciuric calcium kidney stone formers. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2009;297:F1017-23.
23. Messa P, Mioni G, Montanaro D, Adorati M, Antonucci F, Favazza A, et al. About a primitive osseous origin of the so-called 'renal hypercalciuria'. *Contrib Nephrol*. 1987;58:106-10.
24. Pacifici R, Rothstein M, Rifas L, Lau KH, Baylink DJ, Avioli LV, et al. Increased monocyte interleukin-1 activity and decreased vertebral bone density in patients with fasting idiopathic hypercalciuria. *J Clin Endocrinol Metab*. 1990;71:138-45.
25. Heilberg IP, Weisinger JR. Bone disease in idiopathic hypercalciuria. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2006;15:394-402.
26. Eastell R, Simmons PS, Colwell A, Assiri AM, Burritt MF, Russell RG, et al. Nyctohemeral changes in bone turnover assessed by serum bone Gla-protein concentration and urinary deoxypyridinoline excretion: Effects of growth and ageing. *Clin Sci (Lond)*. 1992;83:375-82.
27. Schlemmer A, Hassager C, Alexandersen P, Fledelius C, Pedersen BJ, Kristensen IO, et al. Circadian variation in bone resorption is not related to serum cortisol. *Bone*. 1997;21:83-8.
28. Crawford MA, Milne MD, Scribner BH. The effects of changes in acid-base balance on urinary citrate in the rat. *J Physiol*. 1959;149:413-23.
29. Saifur Rohman M, 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;67:1410-9.
30. Solocinski K, Richards J, All S, Cheng KY, Khundmiri SJ, Gumz ML. Transcriptional regulation of NHE3 and SGLT1 by the circadian clock protein Per1 in proximal tubule cells. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2015;309:F933-42.
31. Aggarwal KP, Narula S, Kakkar M, Tandon C. Nephrolithiasis: Molecular mechanism of renal stone formation and the critical role played by modulators. *Biomed Res Int*. 2013;2013:292953.