

Estudio Haurtxo. Valores de referencia del citrato en plasma y orina en la edad pediátrica

R. Areses, D. Arruebarrena, M. Arriola, T. Mingo, B. Ugarte y M. A. Urbieta
Sección de Nefrología Pediátrica. Hospital Materno Infantil Nra. Sra. de Aránzazu. San Sebastián.

RESUMEN

Se han obtenido los valores de referencia del citrato en plasma y orina en una población infantil (373 niños) de 3 a 14 años de edad. Los valores del citrato en plasma ($X = 98,11 \pm 23,84 \mu\text{mol/L}$) no muestran variaciones ni con el crecimiento ni con el sexo. El aclaramiento del citrato (ml/min/1,73 m^2) y otras formas de expresión, de la excreción de citrato por la orina, varían con la edad y con el sexo. Solamente la citraturia, expresada en mg/kg/24 h , anula estas variaciones ($X = 45,78 \pm 19,28 \mu\text{mol/kg/24 h}$), por lo que recomendamos esta forma de expresión para determinar con más exactitud la citraturia en niños. Todas las formas de expresión de la citraturia que hemos estudiado presentan una gran dispersión de los valores de la muestra, lo que dificulta la detección de las hipocitraturias no severas. Los niveles de citrato $\text{mg citratolg creatinina}$ encontrados en orina de micción aislada no presentan una buena correlación con la excreción de citrato $\text{mg citratolg creatinina}$ en orina de 24 horas ($r = 0,49$), no reflejando con exactitud la excreción de citrato por la orina.

Palabras clave: **Citrato. Citratemia. Citraturia. Valores de referencia en la infancia.**

HAURTXO STUDY. REFERENCE VALUES OF CITRATE IN PLASMA AND URINE IN THE PEDIATRIC AGE

SUMMARY

The reference values for plasma and urine citrate were obtained from our 3-14 years old population (373 children). The plasma values ($x = 98.11 \pm 23.84 \mu\text{mol/L}$) did not show any variation with growth or sex. The citrate clearance and other most an loss phase check expressions of citrate excretion increased with age and significant differences between males and females were found. Only citrate excretion related to body weight ($x = 45.78 \pm 19.28 \mu\text{mol/kg/24 hours}$) did not vary with growth or sex.

Recibido: 7-VII-93.
En versión definitiva: 29-XI-93.
Aceptado: 1-XII-93.

Correspondencia: Dr. R. Areses.
Sección Nefrología Pediátrica.
Hospital Ntra. Sra. de Aránzazu.
Avda. Dr. Beguiristain, s/n.
20014 San Sebastián.

The use of this ratio is therefore recommended. All parameters of citrate levels in 24 hours urine samples showed a very wide range therefore, it is difficult to detect non acute hypocitraturias in children. Random urine citrate levels (mg citratelg creatinine) did not correlate well with 24 hour excretion of urine citrate (mg citratelg creatinine) ($r = 0.49$) and it did not reveal accurately the urine citrate excretion.

Key words: Citrate. Citratemia. Citraturia. Reference values in childhood.

Introducción

El citrato es un anión que forma un complejo soluble con el calcio, siendo uno de los principales factores que inhiben la formación de cristales en orina ^{1,3}.

Investigaciones recientes han demostrado la existencia de una hipocitraturia en algunas situaciones patológicas. Además de la existente en la acidosis tubular distal, puede haber una disminución en la eliminación de citrato por la orina, en la hipercalcemia idiopática, en el síndrome de malabsorción intestinal y como se ha demostrado últimamente, en la litiasis renal idiopática; también puede aparecer durante el tratamiento con acetazolamida, en los estados de deplección de potasio y en la inanición ¹⁻⁷. Asimismo, se ha descrito una menor eliminación urinaria de citrato en hijos de padres litiasicos ⁸.

Existen pocos estudios sobre valores de referencia de la citratemia y de la citraturia en niños ⁹⁻¹¹. En este trabajo se presentan dichos valores de referencia obtenidos en 374 niños de nuestra población infantil normal.

Pacientes y métodos

Los niños analizados procedían de la consulta externa de Cirugía Pediátrica de nuestro hospital, donde acudían para ser sometidos a intervenciones menores (hernias, fimosis, etc.), o se trataba de hermanos sanos, de niños que por padecer patología renal diversa estaban siendo controlados en la consulta externa de Nefrología Pediátrica.

Para incluir a un niño en el estudio debía cumplir los siguientes criterios de normalidad: ausencia de enfermedad renal o de otro tipo, exploración clínica y tensión arterial normal, tira reactiva en orina negativa, screening bioquímico y hematológico normales.

El estudio se realizó en la Sección de Nefrología Pediátrica en régimen ambulatorio. Con anterioridad se instruía a la madre en la recogida de orina de 24 horas. La mañana en que finalizaba la recogida de dicha orina, el niño acudía a la Sección de Nefrología Pediátrica, se le efectuaba una extracción de sangre en ayunas y se le recogía orina de una micción aislada (segunda micción de la mañana). La dieta fue libre y

en todos los casos se obtuvo el consentimiento familiar correspondiente. Para corroborar que una muestra de orina de 24 horas estaba correctamente recogida debía cumplir dos requisitos previos ¹²: el aclaramiento de creatinina tenía que situarse dentro de nuestros propios valores de referencia ¹³ y la diferencia entre el aclaramiento de creatinina y el filtrado glomerular estimado mediante la fórmula de Schwartz ¹⁴ debía ser menor de 30.

El número total de niños que se incluyeron en el estudio fue de 373, de los cuales 316 disponían de orina de 24 horas. Inicialmente se dividieron en grupos según la edad, de año en año, de los 3 a los 14 años, ambos inclusive, quedando así constituidos 11 grupos (tabla I).

Tabla I. Distribución de la muestra

Edad (años)	Hombres	Mujeres	N.º
3	41	9	50
4	28	10	38
5	25	7	32
6	29	10	39
7	22	12	34
8	26	8	34
9	19	9	28
10	22	2	24
11	23	5	28
12	19	7	26
13-14	20	20	40
Total	274	99	373

Los niveles de creatinina en sangre y orina se midieron en un autoanalizador Astra 4 Beckman. El citrato fue analizado por el método de la citrato liasa (EC 4,1,3,6) de la casa Boehringer (cat n.º 139076) ¹⁵; el citrato en plasma fue medido sin previa desproteínización ¹⁶⁻¹⁸. Alícuotas de las muestras eran estables durante varios meses a -20°C ^{17,18}; previamente al análisis se llevaban a temperatura ambiente y se centrifugaban a 11.000 rpm y 1.400 rpm para plasma y orina respectivamente. La reacción fue realizada a temperatura ambiente (25°C). Las muestras y los reac-

tivos fueron dispensados utilizando una pipeta Eppendorf multipipette 4780; el volumen final de la reacción en la cubeta era de 1,51 ml. Las absorbancias fueron medidas en un espectrofotómetro Clinical System 700 Beckman. La reacción era lineal entre 50 uM y 1,90 mM. El kit contenía un estándar acuoso de una concentración determinada de citrato, a partir del cual se prepararon soluciones de distintos niveles para ser utilizados como controles. La precisión interensayo fue determinada a cuatro concentraciones diferentes de citrato: 1.900 uM - 0,5 %; 800 uM 2,2 %; 400 uM 6,1 %; 200 uM - 6,8 %. Se obtuvo una precisión intraensayo del 7,8 % utilizando un pool de plasma a una concentración de citrato de 103,8 uM.

La excreción urinaria de citrato (UCit) fue expresada en mg o umol/24 h, mg o umol/kg/24 h y mg o umol/24 h/1,73 m². Se obtuvieron además el aclaramiento de citrato en ml/min/1,73 m² (CCit) y el índice mg de citrato/g de creatinina (mg/g Cr) tanto en orina de 24 horas (ICit/Cr 24 h) como en micción aislada (ICit/Cr m.a.). La concentración de citrato en plasma (PCit) se expresó en umol/L o ug/dl. Se hicieron estudios de las variaciones con respecto al sexo y a la edad con todas las expresiones anteriormente citadas.

Los análisis estadísticos se realizaron en un ordenador IBM-PC, con la ayuda del programa estadístico Microstat (Ecosoft, USA); los métodos estadísticos utilizados en el estudio fueron: test de comparación de medias (t de Student), método de los mínimos cuadrados para calcular los coeficientes de correlación y las ecuaciones de las rectas de regresión y método de comparación de pendientes e interceptos para la comparación de rectas significantes ¹⁹.

Resultados

Los valores encontrados de PCit se ajustan a una distribución normal; no varían con la edad ($y = 97,90 + 0,002x$ (edad en meses); $r = 0,003$) (tabla II), pero si el estudio se realiza en cada sexo por separado aparecen variaciones mínimas en las hembras ($r = -0,15$). Las diferencias de valores entre los dos sexos no son significativas ($p = 0,22$), por lo que calculamos la media de todos los casos ($x = 98,11 \pm 23,84$ umol/L) (tabla III). El coeficiente de variación para los niveles de citrato en plasma es del 24,3 %.

Los valores de la UCit en las distintas formas de expresión estudiadas también se ajustan a una distribución normal.

En la figura 1 se muestra la correlación existente entre la UCit expresada en mg/24 h y la edad, en donde se pone de manifiesto un progresivo y significativo aumento. No existen diferencias entre sexos.

Tabla II. Coeficientes de correlación (r) entre los niveles de citrato en plasma, orina y aclaramiento de citrato con la edad, peso, talla y superficie corporal.

	Edad	Peso	Talla	Sc ^a
<i>Citrato en plasma</i> umol/L	-0,03 ^b	-0,07 ^b	0,0005 ^b	-0.03 ^b
<i>Citrato en orina</i>				
mg/24h	0,61	0,61	0,63	0,63
mg/g Cr en orina 24 h	-0,21	-0,22	-0,20	-0,22
mg/kg/24 h	-0,04 ^b	-0,12 ^b	-0,04 ^b	-0,08 ^b
mg/24 h/1,73 m ²	0,20	0,17	0,21	0,19
mg/g Cr en micción aislada	-0,19	-0,18	-0,19	-0,19
<i>Aclaramiento de citrato</i>				
ml/min/1,73 m ²	0,22	0,20	0,22	0,21

SC= superficie corporal.

b coeficientes no significativos.

Tabla III. Niveles de citrato en plasma y orina en niños de 3 a 14 años de edad.

	N	x	SD	X-2SD
<i>Citrato en plasma</i>				
mg/L	311	20,61	5,00	
umol/L	311	98,11	23,84	
<i>citrato en orina</i>				
mg/kg/24 h	330	9,62	4,05	1,52
umol/kg/25 h	330	45,78	19,28	7,22

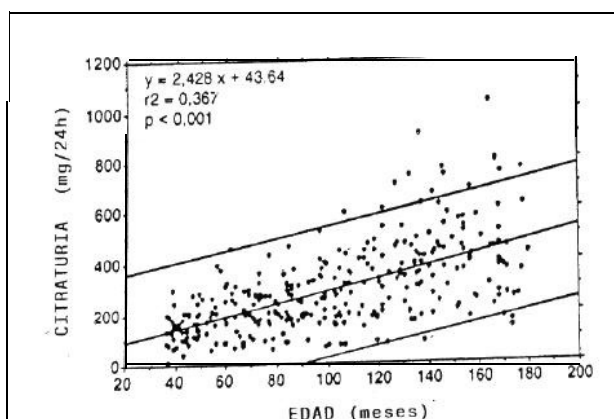


Fig. 1.-Variación de la concentración de citrato en orina (mg/24 h), con la edad, en niños de 3 a 14 años de edad; bandas de predicción (90 % de la población) para la recta de regresión.

Si la UCit se expresa en mg/24 h/1,73m², se observa un ligero aunque significativo aumento (tabla II). En este caso los valores varían de manera significativa entre ambos sexos.

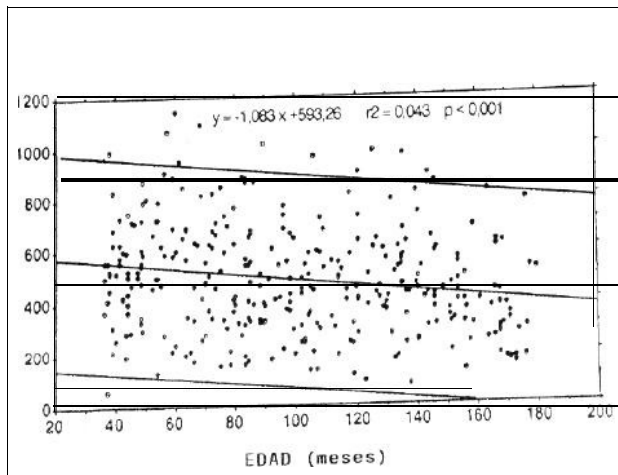


Fig. 2.-Variación de la concentración de citrato en orina de 24 horas, (mg/g Cr) (Cit/T 24 h) con la edad, en niños de 3 a 14 años; bandas de predicción (90 % de la población) para la recta de regresión.

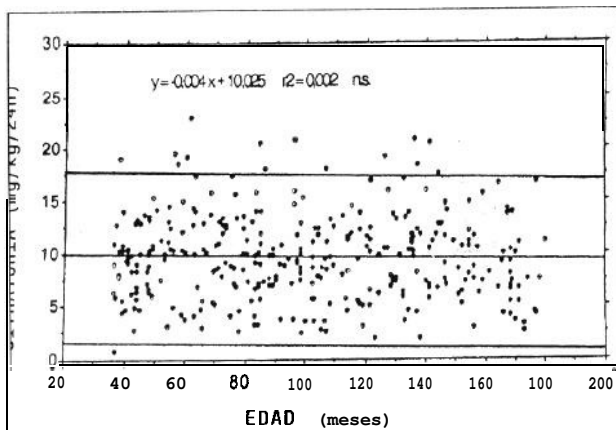


Fig. 3.-Variación de la concentración de citrato en orina (mg/kg/24 h), con respecto a la edad, en niños de 3 a 14 años; bandas de predicción (90 % de la población) para la recta de regresión.

El ICit/Cr 24 h (fig. 2) muestra un ligero aunque significativo descenso con el crecimiento (tabla II). Al comparar las pendientes y los interceptos de las rectas de regresión obtenidas para cada sexo, las diferencias son significativas. La dispersión de los valores presenta un coeficiente de variación del 44 %; los valores mínimos de esta forma de expresión (X-2ds) a partir de los 12 años de edad alcanzan el valor cero. Por ello, esta forma de expresión no es capaz de detectar una hipocitraturia por encima de esta edad (fig. 2).

La expresión mg/kg/24 h no presenta variaciones significativas ni con la edad (fig. 3) ni con otros pará-

metros de crecimiento (tabla II), tanto si se valoran todos los casos en conjunto o separados por sexos. Tampoco existen diferencias significativas al comparar los valores de ambos sexos entre sí (t de Student, $p > 0,05$). Estas circunstancias estadísticas permiten constituir un solo grupo con todos los casos de la muestra, calculando su media y su desviación estándar (tabla III). Esta forma de expresión, igual que las otras estudiadas, presenta una dispersión importante de sus valores, mostrando un coeficiente de variación del 42 %.

El CCit (ml/min/1,73 m²) se incrementa ligeramente con el crecimiento no sólo en el conjunto de la muestra ($y = 11,98 + 0,04x$ (edad en meses); $r = 0,22$, $p < 0,01$) sino en cada sexo por separado (varones: $r = 0,22$, $p < 0,01$; hembras: $r = 0,20$, $p < 0,01$). Entre los valores de los varones y los valores de las hembras también hay diferencias significativas (comparación de interceptos, $p < 0,05$, y comparación de pendientes, $p < 0,05$).

También estudiamos la excreción de citrato en micción aislada (segunda micción de la mañana) mediante el ICit/Cr m.a., identificando una variación negativa con el crecimiento (tabla II). Al correlacionar este índice con las diferentes formas de expresión de la citraturia en orina de 24 horas, la correlación mayor se obtiene con el mismo índice en orina de 24 horas (ICit/Cr 24 h) ($r = 0,49$, $r^2 = 0,24$) (fig. 4), lo que estadísticamente no puede ser considerada como una buena correlación.

Discusión

El citrato es filtrado libremente en el glomérulo y posteriormente reabsorbido en el túbulo mediante un transporte activo en la membrana tubular y peritubular. En estudios recientes se ha demostrado que esta reabsorción ocurre principalmente en el túbulo proximal. La excreción fraccional del citrato varía con las diferentes especies; así, en humanos oscila entre el 10 y el 35 % del filtrado^{3,20}. Dentro de la célula, el citrato es oxidado en la mitocondria, proceso que es frenado por la alcalosis intracelular, lo que condiciona una excreción aumentada del citrato por la orina. Por el contrario, la acidosis intracelular estimula la oxidación del citrato en la mitocondria, dando lugar a una disminución de la citraturia, lo que provoca una excreción disminuida del citrato por la orina³.

Recientemente, Halperin²¹ ha propuesto una nueva hipótesis sobre la patogenia de la acidosis tubular proximal aislada, sugiriendo que se debe a una alcalinización del pH intracelular en el túbulo proximal,

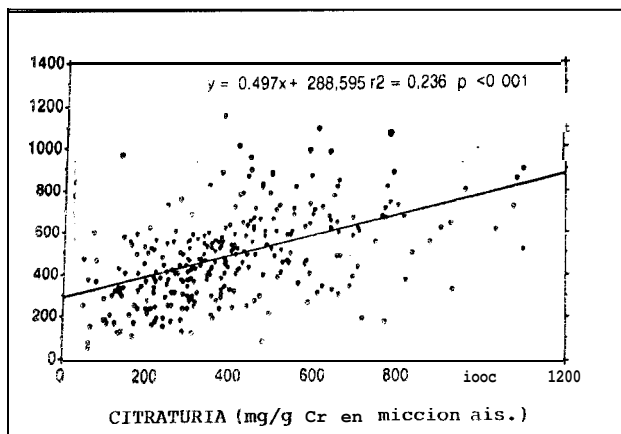


Fig. 4.-Correlación entre niveles de citrato en orina de 24 horas (mg/g Cr) (ICit/Cr 24 h) y niveles de citrato en orina de micción aislada, (mg/g Cr) (ICit/Cr m.a.) en niños de 3 a 14 años de edad.

lo que provoca una disminución de la reabsorción del bicarbonato a este nivel y un aumento de excreción de citrato. Basándose en estos hechos, este autor recomienda como test indirecto para valorar el pH intracelular la determinación de la excreción de citrato por la orina.

Por otro lado, Norman⁹ utiliza la excreción urinaria de citrato en orina de 24 horas como un test de screening para detectar la acidosis tubular distal en personas de riesgo.

De todo lo dicho se deduce, por tanto, que la determinación de la excreción de citrato por la orina va a ser importante para el diagnóstico correcto de algunas enfermedades renales^{1,4-7}, y si queremos que esta valoración sea lo más exacta posible va a ser necesario conocer los valores de referencia de este metabolito.

Sin embargo, disponemos de escasos estudios sobre valores de referencia del citrato en plasma y orina en niños^{9-11,22}. El análisis de los datos obtenidos en nuestro trabajo nos ha llevado a la conclusión de que los niveles de citrato en la orina se manejan con más exactitud cuando se expresan en mg/kg/24 h, debido a que es la única forma de expresión que elimina variaciones con respecto al crecimiento y al sexo (tabla II, fig. 3).

Observamos también que la citraturia, cualquiera que sea la forma en que se exprese, muestra una gran dispersión a lo largo de la infancia, dificultando la detección de hipocitraturias no severas. Este amplio rango probablemente esté directamente relacionado con la variabilidad de la ingesta de citrato en la dieta. Los niveles prácticamente constantes de citrato en plasma que encontramos en este grupo de niños (tabla III) están en conexión con la amplia variación de sus niveles en orina.

También hemos puesto de manifiesto que el citrato en orina de micción aislada, expresado en mg/g Cr (ICit/Cr m.a.), no refleja de manera correcta la excre-

ción de citrato por orina, ya que la correlación obtenida con el mismo índice en orina de 24 horas (ICit/Cr 24 h), aunque la más alta de las estudiadas, es manifiestamente baja (fig. 4). Por tanto, aunque son evidentes las grandes ventajas que ofrecen los estudios de función renal realizados en micción aislada, en el caso de la citraturia, tras la evaluación estadística de los datos obtenidos en este trabajo, hemos llegado a la conclusión de que la determinación del citrato en orina de micción aislada podría llevarnos a errores superiores a los que conlleva la recogida de orina de 24 horas.

Agradecimientos

Agradecemos la ayuda prestada por el Servicio de Cirugía Pediátrica de este hospital, así como la asistencia técnica llevada a cabo por las Srtas. I. González, L. Liceaga y P. Manrique.

Bibliografía

- Rudman D, Dedonis JL, Fountain MT, Chandler JB, Geron GG, Fleming GA y Kutner MH: Hypocitraturia in patients with gastrointestinal malabsorption. *N Engl J Med* 303:657-661, 1980.
- Baggio B, Gambaro G, Favaro S, Borsatti A, Pavanello L, Siviero B, Zacchello G y Rizzoni GF: Juvenile renal stone disease: a study of urinary promoting and inhibiting factors. *J Urol* 130:1133-1135, 1983.
- Simpson DP: Citrate excretion: a window on renal metabolism. *Amer Physiol Soc* 244:F223-F234, 1983.
- Nicar MJ, Skurla C, Sakhaee K y Pak CYC: Low urinary citrate excretion in nephrolithiasis. *Urology* 21:8-14, 1983.
- Torres A, Balaguer G, Suria S, Concepción MT, Valido P, Lorenzo V, Hernández D, Getino MA, Zaera A, Alarcó B y González-Posada JM: Hipocitraturia en la nefrolitiasis cálcica: Su incidencia en las formas hipercalcémicas y normocalcémicas. *Nefrología* 10:154-159, 1990.
- Menon M y Mahle Cj: Urinary citrate excretion in patients with renal calculi. *JUrol* 129:1158-1160, 1983.
- Nikkilä M, Koivula T y Jokela H: Urinary citrate excretion in patients with urolithiasis and normal subjects. *Eur Urol* 16:382-385, 1989.
- Rodríguez LM, Orejas C, Rey C, Valdés MM, Méndez A, Santos F y Málaga S: Alteraciones metabólicas precoces en hijos de padres con urolitiasis. *Nefrología* 12:96A, 1992.
- Norman ME, Feldman NI, Cohn RM, Roth KS y McCurdy DK: Urinary citrate excretion in the diagnosis of distal renal tubular acidosis. *JPediatr* 92:394-400, 1978.
- Miller LA y Stapleton FB: Urinary citrate excretion in children with hypercalciuria. *JPediatr* 107:263-266, 1985.
- Back D, Hesse A, Bernal-Sprekelsen MS y Nemath S: Normal values of lithogenic and inhibitory substances in the urine of healthy children. En Walker VR, Sutton RAL, Cameron ECB, Pak CYC, Robertson WC (eds.): *Urolithiasis*, pp. 775-777, Plenum Press, New York, 1989.
- Stapleton FB, Linshaw MA, Hassanein K y Gruskin AB: Uric acid excretion in normal children. *JPediatr* 92:911-914, 1978.
- Urbieta MA, Arriola M, Garrido A, Ugarte B y Areses R: Estudio Haurtxo. Valoración de creatinemia, creatinuria y aclaramiento de creatinina en niños normales. *Nefrología* 11:327-331, 1991.

14. Schwartz GJ, Haycock GB, Chir B y Spitzer A: Plasma creatinine and urea concentration in children: normal values for age and sex. *JPediatr* 88: 828-830, 1976.
15. Mollering H: *Methods of enzymatic analysis* (Bergmayer HU ed.), 3rd ed., vol. VII, pp. 2-12. Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach-Florida, Basel, 1985.
16. Zender R, De Torrenté C y Schneider U: Analyse du citrate plasmatique par voie enzymatique sans deproteïnisation. *Clin Chim Acta* 24:335-340, 1969.
17. Whinney MC, Cowley DM y Chalmers AH: An automated method for measuring plasma citrate without protein precipitation. *Clin Chem* 31 :1578-1579, 1985.
18. Borland WW, Ferguson JC y Dryburg FJ: A fast automated method for measuring serum and urine citrate. *Ann Clin Biochem* 26:286-288, 1989 .
19. Kleinbaum DC, Kupper LL y Muller KE: *Applied regression analysis and other multivariable methods*. PWS-KENT Publishing Company, 2nd ed., pp. 41-71, Boston, 1989.
20. Golberg H, Gass L, Vogl R, Rapoport A y Oreopoulos DC: Urine citrate and renal stone disease. *Can Med Assoc J* 141:217-221, 1989.
21. Haiperin ML, Kamel KS, Ethier JH y Magner PO: What is the underlying defect in patients with isolated, proximal renal tubular acidosis. *Am J Nephrol* 9:265-268, 1989.
22. Conte A, Roca P, Gianotti M y Grases F: On the relation between citrate and calcium in normal and stone-former subjects. *Int Urol Nephrol* 22:7-12, 1990.