



Métodos para medir el potencial de cristalización de la orina: RSS frente a APR



William G. Robertson BSc, PhD, DSc

El Dr. Robertson es bioquímico clínico, y trabaja en la actualidad en el Departamento de Fisiología (Centro de nefrología), Royal Free and University College Medical School, Londres, Inglaterra. Sus principales temas de interés son la urolitiasis y sus áreas de investigación relacionadas. Trabajó fundamentalmente en el campo de la urolitiasis humana durante 40 años, pero en los últimos 10 años también ha supervisado proyectos sobre la formación de cálculos en animales de compañía. Además, el Dr. Robertson trabaja con Lithoscreen, un servicio que se instituyó para realizar una prueba de detección sistemática a los pacientes con objeto de identificar las causas de cálculos renales y elaborar así la mejor forma de tratamiento para prevenir la formación de nuevos cálculos.

Abigail E. Stevenson PhD, BSc, MIBiol, Cbiol

La Dra. Stevenson se licenció con honores en la Universidad de Stirling en 1992. Después de trabajar como asistente de investigación en la Universidad de Anchorage, Alaska, durante 6 meses, Abigail Stevenson fue contratada como técnica de investigación en el centro WALTHAM Centre for Pet Nutrition, en 1993 para trabajar sobre el metabolismo de la vitamina A y la taurina en gatos. En 1995, Abigail fue promocionada al puesto de investigador (Research Scientist) para trabajar en el área de la salud del tracto urinario y obtuvo su doctorado en este tema en 2002. La Dra. Stevenson ocupó recientemente un cargo en Comunicación Científica de WALTHAM.

Es extremadamente útil para los clínicos y los investigadores poder predecir la probabilidad con la cual las sales y los ácidos que pueden formar cálculos cristalizarán en la orina fresca. Esto se aplica de la misma forma en los estudios de humana que en los de los animales de compañía. En el hombre, los cinco constituyentes principales de los cálculos son el oxalato cálcico (CaOx), el fosfato cálcico (CaP), el fosfato amónico magnésico (MAP) (también conocido como estruvita), el ácido úrico (AU) y la cistina. En los animales de compañía, los dos constituyentes principales son el oxalato cálcico (CaOx) y el fosfato amónico magnésico (MAP), aunque también se han publicado algunos casos de cálculos de cistina y de urato en algunas razas de perros, como los dálmatas. Si bien en el hombre, los cálculos de fosfato cálcico y de ácido úrico son frecuentes, rara vez son los constituyentes principales en los cálculos en los animales de compañía.

El factor principal que determina el potencial de cristalización de la orina es el nivel de sobresaturación de los diversos componentes que pueden formar los cálculos. El concepto de sobresaturación se aborda con detalle en el artículo publicado en este mismo número por Vincent Biourge (véase página 41). Resumiendo, en la literatura existen dos métodos principales para evaluar la sobresaturación de la orina -La **Sobresaturación Relativa (RSS)** y el **Cociente del Producto de Actividad (APR)**. Ambos métodos tienen su origen en estudios realizados en la orina humana a finales de la década de 1960 (1) y a principios de la década de 1970 (2), pero no se han introducido en los animales de compañía hasta aproximadamente la última década. En general, los investigadores veterinarios del

Tabla 1.**Resumen de los valores de RSS calculados en el equilibrio en varias muestras de orina utilizando los programas SUPERSAT y EQUIL (tomado de la referencia 3)**

Disolución en equilibrio	RSS CaOx		RSS MAP	
	SUPERSAT	EQUIL	SUPERSAT	EQUIL
Disolución inorgánica	1,00 ± 0,01 (n=14)	1,01 ± 0,01 (n=14)	0,99 ± 0,02 (n=6)	4,70 ± 0,70** (n=6)
Orina humana	1,00 ± 0,06 (n=6)	1,01 ± 0,07 (n=6)	0,99 ± 0,05 (n=6)	6,57 ± 0,67** (n=6)
Orina de perro	1,21 ± 0,03 (n=6)	1,52 ± 0,03* (n=6)	1,48 ± 0,25 (n=3)	6,61 ± 1,17* (n=3)
Orina de gato	0,97 ± 0,03 (n=6)	1,14 ± 0,03* (n=6)	1,35 ± 0,15 (n=4)	5,74 ± 0,58* (n=4)

* EQUIL > SUPERSAT (P<0,05) ** EQUIL >> SUPERSAT (P<0,01)

Reino Unido y de Europa han adoptado la RSS como el método de elección. En Estados Unidos, se ha utilizado una combinación de la RSS y el APR. En este artículo se intentan comparar y contrastar las ventajas y desventajas de estos métodos.

RSS es el método que utilizan en la actualidad la mayoría de los técnicos en el campo de la urolitiasis humana para evaluar la sobresaturación de la orina. Existen principalmente dos programas utilizados para calcularla, *SUPERSAT* (3) y *EQUIL* (4). Ambos requieren la determinación de las concentraciones totales de 12 cationes y aniones y el pH de cada muestra de orina. Estos datos se introducen en uno u otro de los programas anteriormente mencionados, diseñados para calcular, por medio de un procedimiento repetitivo, las concentraciones del gran número de complejos interactivos que se forman entre esos iones. Los programas también calculan los coeficientes de actividad para los diversos iones y luego combinan las concentraciones de los iones libres relevantes y los coeficientes de actividad para obtener los productos de actividad para cada sal con potencial para formar cálculos. Los productos de actividad se dividen por los *productos de solubilidad* termodinámica correspondientes conocidos de las sales específicas para obtener los valores de RSS de dichas sales en la orina (véase también el artículo de Vincent Biourge, en la página 41).

La principal limitación de este enfoque era la suposición de que no hay complejos, significativos para los cálculos, de los iones de las sales que no se miden en la orina. Sin embargo, ahora se ha demostrado que esta suposición se sostiene, no sólo para la orina humana, sino también para la orina de los animales de compañía (5). Hay diferencias mínimas entre los valores de RSS calculados por SUPERSAT y los calculados por EQUIL con respecto al

CaOx aunque hay una diferencia más significativa con respecto al MAP. En general, SUPERSAT proporciona una estimación de la RSS más precisa que el EQUIL con respecto a la cifra prevista en los experimentos que implican un equilibrio a largo plazo del exceso de cristales de cada sal con la orina de humanos, gatos y perros (*Tabla 1*).

A pesar de su precisión como una medida del potencial de cristalización de una orina determinada, la principal desventaja del método de RSS es la gran cantidad de trabajo analítico necesario para medir la amplia gama de iones necesarios para el cálculo de cada muestra de orina. Por esta razón se desarrolló un enfoque alternativo, denominado cociente de producto de actividad (APR), que precisaba un trabajo analítico considerablemente inferior que la RSS. En su forma original, el APR (que era en realidad un nombre erróneo, ya que no implicaba un cociente de productos de actividad verdadero) se basaba en el análisis de las concentraciones totales de calcio, oxalato y fosfato, y del pH. El APR se calculaba dividiendo los productos relevantes de las concentraciones de esas sustancias en la orina (a) antes de una incubación de 48 horas ($AP_{t=0}$) y (b) después de dicha incubación con cristales de semillas de oxalato cálcico o de fosfato cálcico ($AP_{t=48}$).

En el artículo que publicamos anteriormente sobre este tema (6), examinamos el valor del APR ($=AP_{t=0}/AP_{t=48}$) como una medida de la sobresaturación de la orina con referencia particular al oxalato cálcico. Se llegó a la conclusión de que, puesto que el $AP_{t=48}$ podía verse influido por inhibidores, el APR no era una medida muy exacta del *verdadero* nivel de sobresaturación en la orina original y que RSS era probablemente una medida mucho mejor de este parámetro. Desde entonces, han aparecido más pruebas de que el APR es probablemente una medida poco fiable de la

sobresaturación de la orina y que debe interrumpirse su uso en su forma original.

Dado que el APR es una función de la sobresaturación (aunque no una medida exacta de ella, debido a los efectos de los inhibidores de la cristalización sobre la velocidad a la que se alcanza el equilibrio entre disolución y cristales), cabría sostener que el APR es una medida global razonable de la sobresaturación y de la actividad inhibidora en conjunto. De hecho, a primera vista, podría haber cierto mérito en esta proposición. Sin embargo, el APR resulta ser una función de otros factores además de la sobresaturación y los inhibidores. En total, se estima que es una función de al menos cinco factores: (a) el nivel de sobresaturación inicial de la orina, (b) las concentraciones de los diversos inhibidores y promotores en la orina, (c) el cociente inicial de oxalato: calcio de la orina (**Figura 1**), (d) la densidad de la mezcla de cristal-orina (es decir, la masa de cristales añadidos por unidad de volumen de orina) (**Figura 2**) y (e) el tiempo de incubación (establecido arbitrariamente en 48 horas por los diseñadores originales del método) (**Figura 3**). Dado que los cuatro primeros factores tendrán efectos sobre la curva del producto de actividad verdadera frente al tiempo de incubación de una orina determinada con exceso de cristales de oxalato cálcico o de fosfato cálcico, puede hacerse variar considerablemente la *forma* de la pendiente de la curva de sobresaturación frente al tiempo modificando cualquiera de esas variables (por ejemplo, como en la **Figura 2**). Incluso cuando se fijan arbitrariamente la densidad de la mezcla de cristal-orina y el tiempo de incubación, las variaciones en el cociente oxalato: calcio pueden provocar diferencias bastante grandes en la cantidad de oxalato cálcico precipitado (**Figura 1**). **Probablemente la cantidad de CaOx precipitado (es decir, la cristaluria) es la variable que determina con mayor exactitud el riesgo de formación de cálculos.**

Por ejemplo, tomemos dos orinas simples con exactamente el mismo producto de actividad inicial ($AP_{t=0}$), pero con concentraciones totales iniciales diferentes de calcio ($TCa_{t=0}$) y de oxalato ($TOx_{t=0}$).

Orina 1: $TCa_{t=0} = 10$ mmol/l y $TOx_{t=0} = 0,4$ mmol/l
 Orina 2: $TCa_{t=0} = 5$ mmol/l y $TOx_{t=0} = 0,8$ mmol/l

Ambas tendrán el mismo $AP_{t=0} = 4$.

Supongamos que las dos tienen idéntico $AP_{t=48} = 1,96$ a las 48 horas. Esto les proporcionaría valores de APR

idénticos de $4/1,96 = 2,04$ según el cálculo original de los autores. Sin embargo, cuando se calcula cuánto oxalato cálcico precipita en cada orina para alcanzar un valor de $AP_{t=48} = 1,96$ a las 48 horas, la orina 1 precipitará 0,2 mmol/l de oxalato cálcico y la orina 2

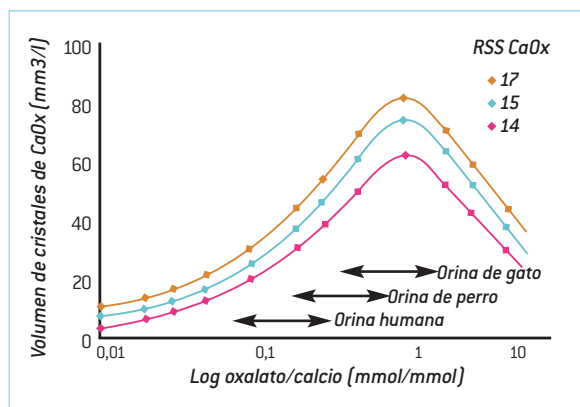


Figura 1. Relación entre la cristaluria de CaOx y el cociente Ox/Ca en orina.

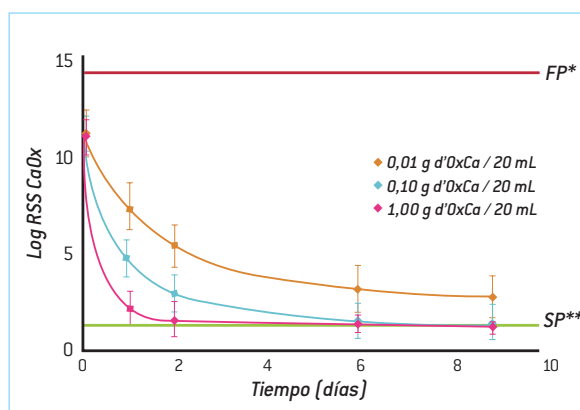


Figura 2. Efecto de la densidad de la suspensión [concentración de cristales] y el tiempo de incubación utilizando la RSS en el equilibrio en orina humana. *Producto de formación, **Producto de solubilidad

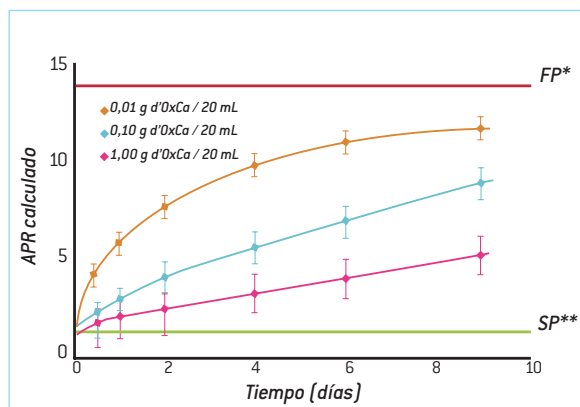


Figura 3. Efecto de la densidad de la suspensión [concentración de cristales] y el tiempo de incubación utilizando el APR en orina humana, calculado utilizando los datos de la **Figura 2**. *Producto de formación, **Producto de solubilidad

precipitará 0,376 mmol/l de oxalato cálcico, casi el doble que la orina 1. La razón sugeriría que la orina 2 tiene un mayor potencial para formar cálculos que la orina 1; y sin embargo las dos tienen los mismos valores de APR!

Utilizando las dos mismas muestras de orina, suponemos **en cambio** que en la orina 2 precipita la misma cantidad de oxalato cálcico durante 48 horas que en la orina 1. Esto lleva a un APR calculado de 1,96 en la orina 1, como antes, y un APR de 1,39 en la orina 2, lo que sugiere que esta última tiene mucho **menor** potencial para formar cálculos que la orina 1, ¡y sin embargo en las dos precipita la misma cantidad de cristales de oxalato cálcico!

Se pueden demostrar los mismos argumentos para la determinación del APR con respecto al fosfato amónico magnésico.

Resumiendo, tanto el numerador como el denominador de la expresión para determinar el APR son dudosos para el CaOx y el MAP. El numerador del APR calculado utilizando el programa EQUIL sobrevalora la RSS para el CaOx y el MAP (en particular este último) en la orina de perros y de gatos. El denominador de la expresión para el APR depende mucho de la densidad de la mezcla de cristales y del tiempo de incubación utilizado en los estudios de equilibrado. Por tanto, esta denominada medida de “actividad inhibidora” puede elevarse o reducirse de manera artificial dependiendo de las condiciones del experimento. El denominador depende también de la RSS de la orina original y del cociente Ox/Ca de la orina.

Aunque el riesgo de formación de cálculos es función a la vez de un aumento del nivel de sobresaturación con respecto a las sales que pueden formar cálculos y de una disminución del nivel de actividad inhibidora en la orina, no puede utilizarse el APR *per se* en su forma original con ninguna fiabilidad para evaluar el potencial de formación de cálculos *global* de una muestra de orina determinada, ya que depende enormemente de las condiciones de los estudios de equilibrado y de la RSS y del cociente Ox/Ca de la orina original, como se afirmó anteriormente.

En teoría, la mejor medida de riesgo de formación de cálculos sería la RSS (calculada utilizando el programa SUPERSAT mejor que el EQUIL, por las razones indicadas en la **Tabla 1**) más las concentraciones de los inhibidores reales de la cristalización que se sabe que están presentes en la orina. En la actualidad, de los inhibidores conocidos en la orina humana, sólo se están midiendo de manera sistemática, el citrato y el magnesio en la orina de los animales de compañía. De ellos, el citrato es un fuerte inhibidor de la cristalización de las sales de calcio, pero sólo está presente en concentraciones muy pequeñas en la orina de los animales de compañía y, por tanto, es improbable que sea importante para determinar el riesgo de formación de cálculos. El magnesio es un inhibidor muy débil de la cristalización de las sales de calcio y no se ha demostrado que sea diferente en las orinas de los animales que han formado cálculos y los animales que no los han formado. Queda por ver si hay inhibidores de la cristalización de la orina de los animales de compañía todavía sin identificar. Por el momento, por tanto, la determinación de la sobresaturación de la orina utilizando RSS sigue siendo el método más útil para determinar el riesgo de formación de cálculos en gatos y perros.

BIBLIOGRAFÍA

1. Nordin BEC, Robertson WG. Calcium phosphate and oxalate ion-products in normal and stone-forming urines. *Br Med J* 1966; **1**: 450-453.
2. Pak CYC, Hayashi Y, Finlayson B, et al. Estimation of the state of saturation of brushite and calcium oxalate: a comparison of three methods. *J Lab Clin Med* 1977; **89**: 891-901.
3. Robertson WG. Measurement of ionized calcium in biological fluids. *Clin Chim Acta* 1969; **24**: 149-157.
4. Werness PG, Brown CM, Smith LH, et al. EQUIL 2: A BASIC computer program for the calculation of urinary saturation. *J Urol* 1985; **134**: 1242-1244.
5. Robertson WG, Jones JS, Heaton MA, et al. Predicting the crystallization potential of urine from cats and dogs with respect to calcium oxalate and magnesium ammonium phosphate (Struvite). *J Nutrition* 2002; **132**:1637S-1641S.
6. Robertson WG, Markwell PJ. Predicting the calcium oxalate crystallisation potential of cat urine. *WALTHAM Focus* 9, issue 3, 32-33.