



HIPERCALCIURIA IDIOPÁTICA ASINTOMÁTICA. INFLUENCIA SOBRE LA SALUD DEL HUESO Y CRITERIOS DIAGNÓSTICOS EN LACTANTES

María del Carmen Rubio Torrents

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

WARNING. Access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.

M. del Carmen Rubio Torrents

M. DEL CARMEN RUBIO TORRENTS

HIPERCALCIURIA IDIOPÀTICA ASINTOMÀTICA.
INFLUENCIA SOBRE LA SALUD DEL HUESO Y
CRITERIOS DIAGNÓSTICOS EN LACTANTES



M. DEL CARMEN RUBIO TORRENTS

Unitat de Recerca en Pediatria, Nutrició i Desenvolupament Humà
Universitat Rovira i Virgili



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

Tesis Doctoral

TESIS DOCTORAL
Universitat Rovira i Virgili

María del Carmen Rubio Torrents

HIPERCALCIURIA IDIOPÁTICA ASINTOMÁTICA.

**Influencia sobre la salud del hueso y
criterios diagnósticos en lactantes**

TESIS DOCTORAL

Dirigida por Dr. Joaquín Escribano Subías,
Dra. Verónica Luque Moreno y Dra. Natàlia Ferré Pallàs

Departament de Medicina i Cirurgia
Unitat de **R**ecerca en **P**ediatria, **N**utrició i **D**esenvolupament **H**umà.



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

Reus 2015

Departamento de Medicina i Cirurgia

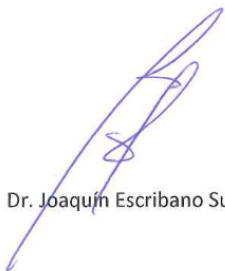
C/Sant Llorenç, 21

43201 Reus

HACEMOS CONSTAR que el presente trabajo, titulado "Hipercalcemia idiopática asintomática. Influencia sobre la salud del hueso y criterios diagnósticos en lactantes", que presenta María del Carmen Rubio Torrents para la obtención del título de Doctor, ha sido realizado bajo nuestra dirección en el Departamento de Medicina y Cirugía de esta universidad.

Reus, 31 de agosto de 2015.

Los directores de la tesis doctoral



Dr. Joaquín Escribano Subías



Dra. Verónica Luque Moreno



Dra. Natàlia Ferré Pallàs

A Jordi, y a mis dos hijos Carla y Jordi.

Pero sobre todo a mis padres,
los cuales siempre me han apoyado.

Os quiero y querré siempre.

AGRADECIMIENTOS

Termina una etapa, y con ella un largo camino recorrido. Son muchas las personas con las que me he cruzado durante este tiempo. Con cada una de ellas he aprendido y vivido algo distinto llevándome de ellos miles de recuerdos, alegrías y lecciones.

En primer lugar, quería agradecer a mis directores de tesis Dr. Joaquín Escribano, Dra. Verónica Luque y Dra. Natàlia Ferré, y a mis compañeros de la Unidad de Pediatría que día tras día me han acompañado en este proyecto.

Joaquín, gracias por tus ánimos, por tu ayuda y por saber transmitir esa tranquilidad y serenidad cuando más lo he necesitado. Gracias Joaquín...mil gracias por todo.

Vero, tens les idees tan clares...converteixes en fàcil el que a vegades és complicat i sense saber-ho m'has donat aquella empenta que em faltava quan més ho he necessitat. Per tot això i més, moltes gràcies!

Natàlia, ets única, ets transparent, ets companya i amiga. Què més puc demanar? Gràcies per la teva paciència, pel teu temps i per haver-me acompanyat durant aquest llarg camí. T'ho agrairé sempre!

Ricardo, aún recuerdo el primer día que me entrevistaste. ¡Qué nervios y que ilusión!. Gracias por darme la oportunidad de entrar en el grupo. Si no hubieras aceptado, no estaría aquí en estos momentos.

Marta i Mariona...les meves nenes!

Marta, hem compartit tants i tants moments! I és que les nostres vides sempre s'han anat creuant. Que per molts anys més els nostres camins segueixin en paral·lel. Estic aquí, en part, gràcies a tu.

Mariona, la meva companya de fatigues i de peripècies! Tu a Reus, jo a Tarragona. Sempre a duo i formant un bon equip. Espero que estiguem juntes molts i molts anys més. Tinc tants i tants bons records amb tu...

Desi, poc hem coincidit, però juntes començarem un nou camí i de ben segur que compartirem milers d'experiències.

Montse, Mercè, Ainara, Paloma,...us tinc molt present.

También quiero agradecer su dedicación, a todo el personal sanitario del Hospital Universitario Sant Joan de Reus y al Hospital Joan XXIII de Tarragona, especialmente al Dr. Adolfo Gómez Papí con quien he aprendido y he compartido experiencias únicas y muy bonitas. Con él aprendí a coger el primer bebé y me invitó a descubrir la magia que puede llegar a surgir entre una madre y su recién nacido. Fueron experiencias muy emotivas. Nunca las olvidaré.

A todos nuestros compañeros del proyecto Europeo EU CHOP, os doy las gracias por vuestro trabajo. En parte, esta tesis es fruto de vuestro éxito.

A las familias que han sido fieles año tras año, gracias por todo lo que nos habéis aportado durante todo este tiempo. Sin vosotros este trabajo tampoco hubiera sido posible.

Finalmente, me gustaría agradecer el apoyo de cada uno de mis amigos y familiares, pero sobre todo quiero agradecer todo lo que me han aportado mis padres. Gracias papá y mamá. Gracias por estar siempre a mi lado, por vuestras muestras de cariño constantes, por vuestra comprensión, por ayudarme con todo lo que puede estar a vuestro alcance y por intentar darme siempre lo mejor. Gracias por sacar tiempo de donde no lo hay, para poder cuidar a mis niños cuando yo estaba trabajando para este proyecto. ¡Gracias, gracias, gracias! Os quiero.

I a tu Jordi...que m'has fet el millor regal que mai hagi pogut tenir, la Carla i el Jordi. Per mi els éssers més bonics d'aquest món. Les seves innocències, els seus somriures, i la seva estima són motiu d'alegria dia rere dia. Us estimo petitons. No canvieu mai, sou el millor que tinc!

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE TABLAS	19
ÍNDICE DE FIGURAS	21
ÍNDICE DE ABREVIACIONES	23
RESUMEN	25
<u>1. INTRODUCCIÓN</u>	<u>29</u>
1.1 HIPERCALCIURIA	33
1.1.1. Definición de hipercalciuria	33
1.1.2. Fisiopatología y clasificación de la hipercalciuria	34
1.1.3. Manifestaciones clínicas de la hipercalciuria idiopática	38
1.1.4. Diagnóstico de hipercalciuria	44
1.1.5. Factores que modifican la calciuria	50
1.1.6. Tratamiento de la hipercalciuria	55
1.2. SALUD ÓSEA	57
1.2.1. Factores de riesgo en la infancia para el desarrollo de osteoporosis	59
1.2.2. Relación de la hipercalciuria con la densidad mineral ósea	66
1.2.3. Mecanismo de desmineralización	68
<u>2. HIPÓTESIS</u>	<u>73</u>

3.	<u>OBJETIVOS</u>	<u>77</u>
4.	<u>MATERIAL Y MÉTODOS</u>	<u>81</u>
4.1.	POBLACIÓN	83
4.2.	PRINCIPALES MEDIDAS	85
4.2.1.	Antropometría	85
4.2.2.	Valoración de la ingesta	87
4.2.3.	Actividad física	90
4.2.4.	Densitometría ósea	91
4.2.5.	Análisis bioquímicos en sangre y orina	94
4.2.6.	Ecografía renal	98
4.3.	ASPECTOS ÉTICOS	99
4.4.	ESTADÍSTICA	99
5.	<u>RESULTADOS</u>	<u>101</u>
5.1.	OBJETIVO 1. VALORACIÓN DE LA EXCRECIÓN DE CALCIO Y DE LA MASA MINERA ÓSEA EN NIÑOS A LOS 7 AÑOS DE EDAD	103
5.1.1.	Evaluación del efecto de la intervención nutricional del primer año de vida	104
5.1.2.	Prevalencia de hipercalciuria idiopática a los 7 años. Características basales y antropométricas de nuestra población en función del diagnóstico de hipercalciuria idiopática	105
5.1.3.	Parámetros bioquímicos urinarios en función del diagnóstico de hipercalciuria idiopática	107

5.1.4.	Ponderación de factores dietéticos que pueden influir en la calciuria	108
5.1.5.	Ponderación de factores que pueden influir sobre la densidad mineral ósea	111
5.1.6.	Evaluación de la influencia sobre la densidad mineral ósea de otros efectos confusores	113
5.2.	OBJETIVO 2. VALORACIÓN DE LA CALCIURIA EN LACTANTES SANOS: FACTORES MODULADORES	117
5.2.1.	Parámetros antropométricos a los 3 y 6 meses en función del tipo de alimentación.	118
5.2.2.	Calciuria en función del tipo de alimentación a los 3 y 6 meses	120
5.2.3.	Moduladores de la calciuria en función del tipo de alimentación	122
5.2.4.	Prevalencia de hipercalciuria en función del tipo de alimentación a los 3 y 6 meses	127
5.2.5.	Percentiles de calciuria en función del tipo de alimentación	129
6.	<u>DISCUSIÓN</u>	131
6.1.	HIPERCALCIURIA IDIOPÁTICA Y MASA MINERAL ÓSEA EN NIÑOS A LOS 7 AÑOS	133
6.1.1.	Prevalencia de hipercalciuria idiopática en niños a los 7 años de edad	133
6.1.2.	Factores moduladores de la excreción urinaria de calcio a los 7 años	133

6.1.3.	Prevalencia de osteopenia en niños con hipercalciuria idiopática asintomática a los 7 años	136
6.1.4.	Factores moduladores de la densidad mineral ósea	137
6.1.5.	Relación de la densidad mineral ósea con la hipercalciuria idiopática a los 7 años	140
6.2.	VALORACIÓN DE LA EXCRECIÓN URINARIA DE CALCIO EN EL LACTANTE	142
6.2.1.	El efecto de la ingesta proteica	143
6.2.2.	El efecto de la lactancia materna	144
6.2.3.	Puntos de corte para el diagnóstico de hipercalciuria en el lactante	146
7.	<u>CONCLUSIONES</u>	<u>151</u>
8.	<u>FINANCIACIÓN</u>	<u>155</u>
9.	<u>BIBLIOGRAFÍA</u>	<u>159</u>
	 <u>ANEXOS</u>	 <u>181</u>
1	Información y consentimiento informado de participación del estudio	183
2	Información específica para la visita en que se realizaba la densitometría y la recogida de orina	191
3	Protocolo de recogida de orina	195
4	Ejemplo de resultado de densitometría ósea	199
5	Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos ricos en calcio	207

6	Cuestionario de actividad física PAQ-C	213
7	Publicación derivada de la tesis	223

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Cocientes Ca/Cr clasificados según edad y reportados por distintos estudios.	46
Tabla 2.	Sistemática inicial de estudio de la hipercalciuria.	48
Tabla 3.	Límites de normalidad de calciuria en pediatría basados en datos estadísticos, mediante los cuales se establece el percentil 95 como límite de normalidad.	55
Tabla 4.	Diagnóstico de osteoporosis según criterios densitométricos en edad pediátrica	58
Tabla 5.	Factores de riesgo para el desarrollo de osteoporosis en la infancia.	60
Tabla 6.	Composición en macronutrientes, minerales y vitaminas de las fórmulas de estudio consumidas durante el estudio en los 5 países	84
Tabla 7.	Intervención nutricional del primer año en relación a los resultados a los 7 años	105
Tabla 8.	Características basales y antropométricas de los participantes según el grupo de diagnóstico.	106
Tabla 9.	Parámetros bioquímicos urinarios según diagnóstico de hipercalciuria idiopática.	108
Tabla 10.	Ingesta de calcio según el diagnóstico de hipercalciuria idiopática.	109
Tabla 11.	Distribución en cuartiles de la ingesta de calcio según diagnóstico de hipercalciuria idiopática.	110

Tabla 12.	Volumen de ingesta según el diagnóstico de hipercalciuria idiopática.	111
Tabla 13.	Parámetros de densitometría en columna vertebral y cuerpo total para cada uno de los grupos de diagnóstico.	112
Tabla 14.	Efecto de la hipercalciuria idiopática en la densidad mineral ósea total z-score.	116
Tabla 15.	Parámetros antropométricos basales, a los 3 y 6 meses de edad en función del tipo de alimentación	119
Tabla 16.	Ingesta calórica, proteica, de sodio, calcio, fósforo y vitamina D para cada Variables renales según el tipo de alimentación grupo de alimentación (3 y 6 meses).	123
Tabla 17.	Efecto del tipo de fórmula en el cociente Ca/Cr de los niños alimentados con fórmula a los 3 y 6 meses.	124
Tabla 18.	Efecto de la ingesta proteica y el tipo de alimentación sobre la calciuria a los 3 y 6 meses.	126
Tabla 19	Percentiles de Ca/Cr urinario (mg/mg) en función del tipo de alimentación (3 y 6 meses).	130

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Fisiopatología de la Hipercalciuria idiopática absortiva	35
Figura 2.	Fisiopatología de la Hipercalciuria idiopática renal	36
Figura 3.	Fisiopatología de la Hipercalciuria idiopática resortiva	37
Figura 4.	Manifestaciones clínicas con las que se presenta la hipercalciuria idiopática, en relación con la edad	38
Figura 5.	Algoritmo diagnóstico de la hipercalciuria normocalcémica	49
Figura 6.	Asignación y seguimiento de la submuestra española EU CHOP (7 años)	103
Figura 7.	Prevalencia de osteopenia y baja densidad mineral ósea para la edad cronológica en controles y en niños diagnosticados de hipercalciuria idiopática	113
Figura 8.	Correlación entre variables antropométricas y densitometría ósea	115
Figura 9.	Asignación y seguimiento de la muestra del EU CHOP (0-6 meses)	117
Figura 10.	Parámetros urinarios para cada tipo de alimentación (3 y 6 meses)	120
Figura 11.	Prevalencia de hipercalciuria según el tipo de alimentación (3 y 6 meses)	128

ÍNDICE DE ABREVIACIONES

AP	Alta proteína
BMA	Área Mineral Ósea
BMAD	Densidad Mineral Ósea Aparente
BP	Baja proteína
CMO	Contenido Mineral Óseo
DE	Desviación Estándar
DMO	Densidad mineral ósea
DXA	Densitometría Dual de Rayos X
FFQ-Ca	Cuestionario de Frecuencia de Consumo de Calcio
FGe	Filtrado Glomerular estimado
GH	Hormona de Crecimiento
GI	Gastrointestinal
HC	Hipercalciuria idiopática
IGF-1	Insuline-like growth factor 1 (Factor de crecimiento análogo a la insulina)
IL-1	Interleucina-1
IMC	Índice de Masa Corporal
IMG	Índice de Masa Grasa
IMM	Índice de Masa Magra
LM	Lactancia Materna
OMS	Organización Mundial de la Salud
PAQ-C	Physical Activity Questionnaire for school children's (Cuestionario de Actividad física para niños en edad escolar).
PGE2	Prostaglandina E2
PTH	Hormona Paratiroidea

RESUMEN

TÍTULO. HIPERCALCIURIA IDIOPÁTICA ASINTOMÁTICA. Influencia sobre la salud del hueso y criterios diagnósticos en lactantes

INTRODUCCIÓN. Una menor densidad mineral ósea (DMO) en la infancia puede estar relacionada con el riesgo de padecer osteoporosis o fracturas en edad adulta, incluso en jóvenes aparentemente sanos. Estudios epidemiológicos realizados hasta la fecha, muestran que un 30% de los niños con hipercalciuria sintomática, un desorden caracterizado por la elevada excreción de calcio en la orina, presentan osteopenia. Se desconoce si los niños que presentan esta alteración metabólica sin síntomas tienen el mismo riesgo.

Por otro lado, existe controversia sobre el criterio diagnóstico de hipercalciuria en el lactante, y se desconoce la influencia que podría tener la alimentación sobre la excreción urinaria de calcio en este periodo del desarrollo.

OBJETIVOS. En primer lugar, valorar la posible influencia de la hipercalciuria idiopática en niños sanos asintomáticos sobre la densidad mineral ósea a los 7 años de edad. Y en segundo lugar, valorar la influencia del tipo de lactancia sobre la excreción urinaria de calcio en lactantes de 3 y 6 meses de vida.

MATERIAL Y MÉTODOS. Dentro del estudio longitudinal CHOP (Childhood Obesity Project) se realizó un análisis observacional en la muestra española a los 7 años de edad (n=175) los cuales fueron clasificados como

hipercalcémicos o controles. Se valoró la excreción de calcio en orina, la DMO mediante una Densitometría de rayos X con doble nivel de energía (DXA) y la antropometría. La ingesta de calcio y la actividad física fueron medidos como factores confusores.

Para la valoración de la calciuria en lactantes sanos a los 3 y 6 meses de edad, se realizó un análisis secundario a toda la muestra de estudio longitudinal CHOP (n=1678). Se obtuvieron 731 muestras de orina a los 3 meses y 573 a los 6 meses en las cuales se midió la calciuria. La antropometría y la ingesta alimentaria fueron evaluados también en los mismos participantes. El volumen renal y la urea/creatinina, fueron medidos a los 6 meses mediante una ecografía y una extracción sanguínea.

RESULTADOS. A los 7 años, la prevalencia de hipercalcemia idiopática en la población estudiada fue del 17.7%. Ambos grupos, hipercalcémicos y controles, mostraron tener unas características basales antropométricas, de distribución de género, de actividad física y de ingestas dietéticas de proteína y calcio muy similares. La excreción urinaria de calcio mostró ser independiente de la ingesta de calcio y de la antropometría. La densidad mineral ósea (DMO) se correlacionó con la antropometría y la actividad física, pero no con la ingesta dietética de calcio. Niños diagnosticados con HC mostraron tener una DMO total z-score inferior a la de los controles. El ser hipercalcémico reducía significativamente la DMO z-score total incluso cuando la antropometría, la actividad física y la ingesta de calcio se incluyeron como factores de confusión en los análisis multivariantes. En relación a la valoración de la excreción de calcio en lactantes de 3 y 6 meses de edad, mostramos que los niños alimentados con lactancia

materna (LM) tenían calciuria significativamente superiores, seguidos de los que consumían fórmula con mayor contenido en proteína (AP) y finalmente por alimentados con fórmula de menor contenido proteico (BP) ($p < 0.001$ para todas las comparaciones). La ingesta proteica o el tipo de fórmula modulaban la calciuria en los modelos de regresión ajustados por la ingesta de calcio, fósforo y sodio y por factores renales como el volumen y el filtrado. La prevalencia de hipercalciuria en los lactantes de 3 y 6 meses de edad (utilizando los puntos de corte habituales) fue de un 37.8% y 17.6% (LM), 16.8% y 11.2% (AP) y un 4.9% y 3.2% (BP) respetivamente.

CONCLUSIONES. El diagnóstico de HC se asocia con una menor DMO a los 7 años de edad, teniendo un 22.6% de los niños hipercalciúricos una baja DMO (< -1 z-score de la población normal) , comparado con el 11.9% de los niños no hipercalciúricos.

Por otro lado, se ha observado que la alimentación consumida durante los primeros meses de vida modifica la calciuria, siendo los niños alimentados con lactancia materna los que muestran niveles más altos. Proponemos nuevos valores de corte según el tipo de alimentación (diferenciando lactancia materna de artificial) para evitar un sobrediagnóstico de hipercalciuria en el lactante sano.

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

El estado mineral del hueso de la vida adulta es el resultado de la máxima densidad mineral ósea (DMO) obtenida en la infancia y juventud y es además, uno de los factores que más influyen en el riesgo de desarrollar osteoporosis.

La osteoporosis es un problema de salud que causa una elevada morbilidad y mortalidad en las personas mayores. Además, es una enfermedad que tiene un gran impacto en la salud pública y en la economía¹.

Para tener una salud ósea óptima en la edad adulta, se consideran claves las primeras etapas del crecimiento y desarrollo, períodos durante los cuales se produce la mayor adquisición de masa ósea. Sin embargo, existen factores genéticos y ambientales que pueden influir en la DMO a lo largo de la vida adulta, así como también hay factores de riesgo que podrían ejercer una influencia negativa dando lugar a fracturas y a una pérdida de calidad de vida a largo plazo².

Uno de los factores que podrían influir en la salud del hueso de forma crónica es una elevada excreción de calcio a nivel urinario (hipercalciuria)³. Esta elevada excreción podría ocasionar, un déficit en la adquisición de DMO en edad pediátrica y por consiguiente, una posible osteopenia u osteoporosis a largo plazo.

Los criterios de diagnóstico de hipercalciuria en el adulto se basan en la evidencia de que excreciones de calcio superiores a cierto nivel incrementan el riesgo de padecer litiasis renal⁴. Sin embargo, en niños pequeños, este criterio de diagnóstico es basado en datos epidemiológicos. Por convención, el criterio diagnóstico de hipercalciuria

en lactantes se calcula como niveles de calcio en orina superiores al 95% de la población estudiada y según la edad⁴.

En la presente tesis, estudiaremos dos aspectos de la excreción urinaria de calcio en la infancia:

1. La posible influencia de la excreción urinaria de calcio sobre la masa ósea en niños con hipercalciuria idiopática asintomática.
2. La influencia del tipo de alimentación durante la lactancia sobre la excreción urinaria de calcio y sobre el criterio diagnóstico de hipercalciuria.

1.1. HIPERCALCIURIA

1.1.1. DEFINICIÓN DE HIPERCALCIURIA

La hipercalciuria es una anomalía metabólica que se caracteriza por una excreción urinaria de calcio por encima del límite fisiológico, acompañada de una calcemia normal. Los límites fisiológicos de excreción pueden variar con la edad, siendo de 4mg/Kg/día en niños con edad superior a 2 años⁵.

La hipercalciuria idiopática (HC) es un desorden metabólico, autosómico dominante, que se caracteriza por la elevada excreción urinaria de calcio junto a una calcemia normal, siendo su causa desconocida. Para ello, se debe descartar la presencia de otras posibles causas de hipercalciuria normocalcémica como son: el hiperparatiroidismo, la enfermedad de Paget, la intoxicación por vitamina D, el exceso endógeno o exógeno de glucocorticoides, la sarcoidosis o la inmovilización⁶.

La HC en edad pediátrica es asintomática en muchos de los casos, pero entre el 20-30% puede manifestar síntomas como: hematuria, disuria, urgencia miccional, disfunción de la micción y dolor abdominal difuso o cólico⁷.

La prevalencia de HC varía según la población estudiada; dependiendo de los hábitos alimentarios adquiridos de la población, la composición mineral del agua, el clima, la genética y la raza. Se han observado prevalencias que oscilan entre el 0.6% (en niños japoneses⁸) hasta el 38.6% (en niños kazakos⁹).

1.1.2. FISIOPATOLOGÍA Y CLASIFICACIÓN DE LA HIPERCALCIURIA

La homeostasis del calcio implica un control coordinado del manejo del mineral por el intestino, el riñón y el hueso, bajo la influencia de la hormona paratiroidea (PTH) y la $1.25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (calcitriol). Estas hormonas regulan la síntesis y la actividad de los transportadores del calcio en los tres órganos. Además, el receptor sensible al calcio permite que las células de la paratiroides, el túbulo renal, y potencialmente el intestino y el hueso, supervisen los niveles locales del ion calcio, y modifiquen su función en respuesta a los cambios de concentración. La regulación anómala del calcio en estos órganos se ha implicado con la aparición de la HC, sin embargo, los mecanismos subyacentes no están completamente claros y las contribuciones relativas de cada órgano pueden variar de un individuo a otro¹⁰.

De forma clásica, en la HC se reconocieron tres grandes subgrupos según el principal mecanismo fisiopatológico implicado fuera absorbivo, renal o resortivo. Esta clasificación se fundamentaba en la influencia que sobre los niveles de excreción urinaria de calcio, podían ejercer los niveles séricos de fósforo y PTH, o la presencia de ayuno o de sobrecarga oral de calcio¹¹.

▪ HIPERCALCIURIA IDIOPÁTICA ABSORTIVA

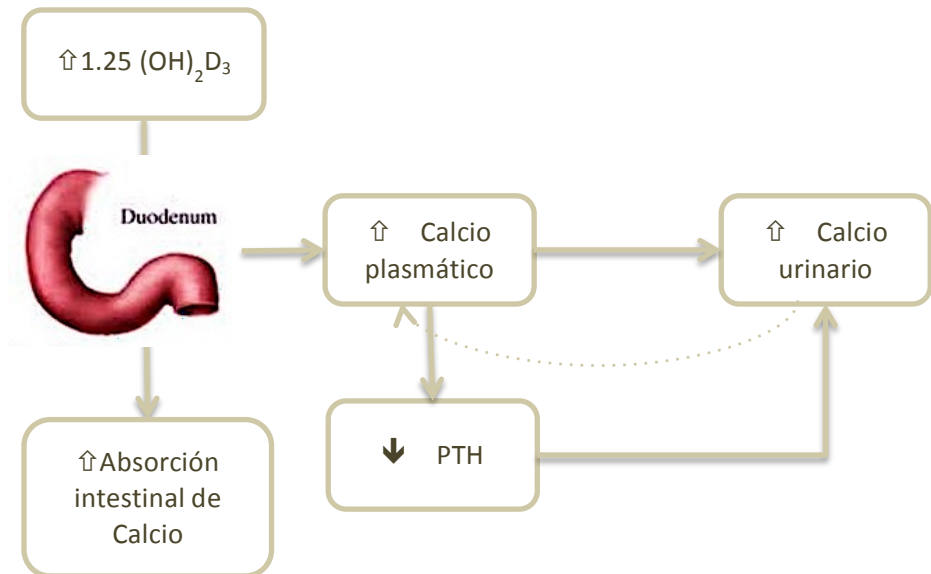
La HC absorbiva es el tipo de hipercalciuria más común. Se produce debido a un incremento de la absorción intestinal de calcio secundaria a la acción de la vitamina D. Esta vitamina es un factor modulador de la absorción intestinal de calcio, por lo que el calcio plasmático se verá aumentado (Figura 1) y como consecuencia también su excreción urinaria.

La elevada suplementación de vitamina D, una producción endógena excesiva de esta vitamina o una hipersensibilidad de la mucosa intestinal¹² son factores que pueden dar lugar a una HC absorbiva. Dependiendo de cuál sea la causa principal, sub-clasificaremos este tipo de HC en¹³:

- Hipercalcemia absorbiva de tipo I (de forma directa)¹⁴
- Hipercalcemia absorbiva de tipo II (si es mediado por la vitamina D₃)¹⁵

Normalmente, los pacientes con hipercalcemia absorbiva, normalizan los valores de calcio en orina al restringir la ingesta de calcio dietético, y los aumentan al incrementar su ingesta; así que unas medidas dietéticas adecuadas pueden ser suficientes para estabilizar la calciuria en los pacientes con este subtipo¹⁵. En casos de HC absorbiva graves y persistentes se precisa medicación.

Figura 1. Fisiopatología de la Hipercalcemia idiopática absorbiva



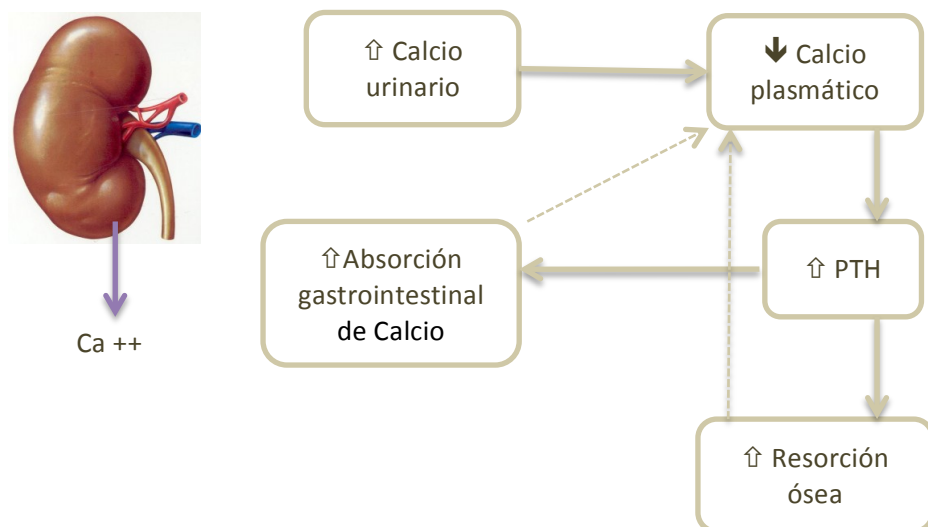
Adaptado de Ordoñez J.¹⁶

▪ HIPERCALCIURIA IDIOPATICA RENAL

La HC renal se produce por la disminución de la reabsorción tubular renal de calcio o fósforo, dando lugar a una pérdida excesiva de calcio por el riñón y un aumento de la PTH y el AMP cíclico¹⁴ (Figura 2). Este hiperparatiroidismo producido como respuesta al balance negativo de calcio, incrementa así mismo la absorción intestinal de calcio.

En éste subtipo de HC, la ingesta dietética de calcio no influye en la excreción urinaria de calcio, por lo que se podría encontrar hipercalcemia en ayunas, a primera orina de la mañana.

Figura 2. Fisiopatología de la Hipercalcemia idiopática renal



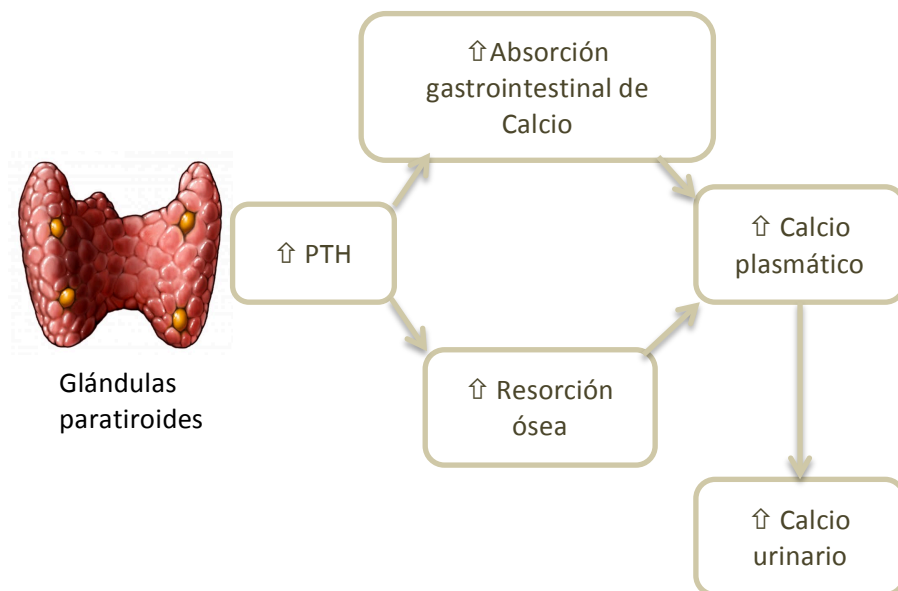
Adaptado de Ordoñez J.¹⁶

▪ HIPERCALCIURIA IDIOPÁTICA RESORTIVA

En la HC resortiva existe un incremento de resorción ósea produciendo hipercalcemia e hipercalcemia (Figura 3); dependiendo de cuál sea su

causa, la hormona paratiroidea circulante puede estar elevada o puede no ser detectable¹⁷. Al igual que los pacientes con HC renal, en los individuos que presentan HC resortiva la ingesta de calcio no modifica su excreción urinaria.

Figura 3. Fisiopatología de la Hipercalciuria idiopática resortiva.



Adaptado de Ordoñez J.¹⁶

Actualmente, no se tiende a clasificar a los pacientes según el tipo de HC que presenten; esto es debido a que, por una parte el mecanismo fisiopatológico puede modificarse a lo largo de los años y por otra, a que las manifestaciones clínicas y el tratamiento de la HC varían poco dependiendo de qué tipo de HC presente el individuo.

Aladjem y colaboradores¹⁸, reevaluaron a 30 niños que inicialmente habían sido diagnosticados de hipercalciuria absorptiva o renal y tras un intervalo de 3 a 7 años, más de la mitad de los pacientes fueron clasificados de forma diferente a la inicial.

1.1.3. MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA HIPERCALCIURIA IDIOPÁTICA

La mayoría de niños con HC son asintomáticos¹⁹ pero existe un pequeño grupo de niños sintomáticos cuyas manifestaciones clínicas se centran prioritariamente en dos órganos diana: las vías urinarias²⁰ y el hueso^{21,22,23}. Las principales manifestaciones clínicas son: hematuria macroscópica o microscópica, disuria, polaquiuria, urgencia miccional, enuresis nocturna, incontinencia, inflamación de las vías urinarias bajas, dolor abdominal y dolor lumbar. A nivel del hueso se puede producir una disminución de la densidad mineral ósea (DMO), que de pasar inadvertida, podría influir en la salud ósea del adulto.

Aunque la hematuria es el síntoma más común a cualquier edad, otros síntomas son más prevalentes dependiendo de la edad del niño. La Figura 4 muestra las manifestaciones clínicas que presenta la HC en niños, en función de la edad.

Figura 4. Manifestaciones clínicas con las que se presenta la hipercalciuria idiopática, en relación con la edad.

GRUPO DE EDAD	SIGNOS Y SÍNTOMAS		
	Más comunes	←————→	Menos comunes
Preescolar (≤ 5 años)	Hematuria Clínica vías bajas Enuresis	Dolor abdominal Microlitiasis	Dolor lumbar Osteopenia Litiasis
Escolar (6-10 años)	Hematuria Clínica vías bajas	Dolor abdominal Microlitiasis Enuresis	Dolor lumbar Osteopenia Litiasis
Adolescente (≥ 11 años)	Hematuria Dolor lumbar	Microlitiasis Osteopenia Litiasis	Dolor abdominal Clínica vías bajas Enuresis

Basado en Escribano et al.²⁴

▪ UROLITIASIS

La litiasis es la manifestación clínica más común de la HC en edad adulta. El riesgo de que los niños hipercalcémicos padezcan litiasis renal es doce veces superior al resto de la población pediátrica general²⁴. Aunque la litiasis renal es poco prevalente en niños, si analizamos la alteración metabólica que presentan estos pacientes, veremos que el 53-80% de las litiasis son consecuencia de una HC²⁵⁻²⁷.

La formación de litiasis en los pacientes hipercalcémicos se produce a partir de la sobresaturación de calcio en orina y de la formación de cristales cálcicos^{28, 29} prioritariamente de oxalato cálcico mono o dihidrato. En muchos niños la enfermedad litiásica se presenta con la formación de microlitiasis en los cálculos renales. Estas estructuras representan cálculos de pequeño tamaño (< 3 mm de diámetro) que se detectan en la ecografía renal, sin dejar sombra acústica posterior y que no son sencillas de diagnosticar³⁰. Pueden estar presentes hasta en un 20-50% de los niños con HC, y la clínica asociada suele ser hematuria o dolor abdominal difuso o cólico. Muchos de estos niños llegan a eliminar estos microcálculos de forma asintomática, mientras que en otros crecen hasta formar un cálculo de mayor tamaño^{31,32}.

Determinar la incidencia real de litiasis en niños con HC es complejo; para abordar éste problema sería interesante establecer qué factores pueden incrementar el riesgo de la aparición de litiasis en el niño (volumen urinario bajo, diuresis nocturna, existencia de antecedentes familiares de litiasis), y valorar tanto los niños hipercalcémicos sintomáticos como los asintomáticos.

Entre los pacientes con HC, el hecho de tener antecedentes familiares de litiasis renal no influye en el riesgo de que el niño haga litiasis renal^{24,33}. En cambio, el volumen urinario, es uno de los factores principales de riesgo de cristalización urinaria en la población infantil sana, siendo la calciuria y la relación citrato/calcio las principales anomalías metabólicas.

Finalmente, comentar que en los niños diagnosticados de litiasis cálcica, la hipercalciuria pasa a ser el principal factor determinante del riesgo de cristalización y litiasis³⁴.

▪ HEMATURIA

Es la manifestación clínica más común entre los niños hipercalciúricos. Su causa podría deberse a la lesión que producen los micro cristales de oxalato cálcico al uroendotelio. La presencia de estos cristales en la orina puede ayudar a diagnosticar la hipercalciuria en los niños con hematuria. Estudios norteamericanos, calcularon que la incidencia de hematuria macroscópica entre los niños hipercalciúricos investigados fue del 20-35%³⁵. Otros estudios epidemiológicos mostraron que entre el 11-16% de los niños estudiados con microhematuria persistente presentaban hipercalciuria²¹.

Se ha observado que disminuyendo las cifras de calciuria, también se produce una disminución de la hematuria^{36,37}. Escribano y colaboradores²⁴ reafirmaron esta observación mostrando que en el 40% de niños hipercalciúricos que presentaban hematuria como síntoma inicial, la hematuria desaparecía significativamente en cuanto se disminuían los niveles de calciuria.

Es difícil mantener la calciuria baja a lo largo del período de seguimiento del paciente; con frecuencia se producen elevaciones transitorias que provocan una hematuria recurrente hasta en un 25% de los casos. Como consecuencia de éstas elevaciones fluctuantes, un estudio sobre la clínica, evolución y riesgo de urolitiasis en niños con HC no tratada farmacológicamente de Escribano J y colaboradores determinó que un 14% de los pacientes, que inicialmente no habían presentado hematuria, lo hicieron en algún momento de su evolución, y un total de 54% de los participantes presentaron hematuria en algún momento del seguimiento²⁴.

- CLÍNICA DE LAS VÍAS URINARIAS BAJAS

La presencia de polaquiuria, urgencia miccional y disuria se ha descrito tanto de forma aislada, como asociada, en diferentes estudios de niños afectados de HC. Originalmente el estudio de Alon y colaboradores³⁸ describió la existencia de una asociación entre estos síntomas en un grupo reducido de niños. Los participantes mejoraban esta sintomatología cuando sus niveles de calciuria disminuían con el tratamiento y volvía a recaer cuando la hipercalciuria reaparecía. No se ha podido demostrar una relación causal en otros estudios más amplios aunque si se han descrito asociaciones entre estos síntomas y la presencia de HC entre un 10-30 % de los casos estudiados en diferentes series de niños, la mayoría de los cuales mejoraron sin seguir ningún tipo de tratamiento específico o sin normalizar los niveles de calciuria²¹.

Aunque la causa de esta asociación es aún desconocida, se cree que puede ser debida a la lesión del endotelio vesical que produce la cristaluria³⁹.

▪ INCONTINENCIA URINARIA

La incontinencia urinaria es un síntoma que también se ha asociado a la HC. En un estudio con 124 niños hipercalcémicos, el 23% tenían incontinencia urinaria. Al disminuir la HC, el 60% de los niños mostraron mejoría clínica⁴⁰. La asociación entre HC y enuresis, tiene una incidencia muy variable (del 5 al 43%) y se ha podido mostrar cierta mejoría con la normalización de la calciuria^{41,42}.

▪ INFECCIÓN URINARIA

La HC podría facilitar la presencia de infecciones urinarias a partir de la formación de microcristales que lesionarían la integridad del uroendotelio, haciéndolo más susceptible a la invasión bacteriana. Simultáneamente, los microcristales podrían facilitar la adhesión y refugio de las bacterias que eludirían los mecanismos de defensa urinarios^{43,44}.

Un estudio de 100 niños con infecciones urinarias determinó la tasa de HC según la presencia de recurrencia. Un 44% de los niños con infección recurrente tenían HC, frente al 10% de los niños con infección aislada⁴⁴. En una muestra de niños hipercalcémicos con infecciones urinarias recurrentes, se utilizó un tratamiento dietético y farmacológico combinado para controlar los niveles de calciuria, y consiguieron controlar las infecciones urinarias⁴⁵. Por el contrario, un ensayo clínico realizado sobre un centenar de niñas hipercalcémicas con infecciones urinarias de repetición, no pudo demostrar que un tratamiento farmacológico pudiera disminuir el número de recurrencias⁴⁶.

▪ DOLOR ABDOMINAL

El dolor abdominal en niños con HC se ha asociado con la presencia de litiasis o microlitiasis renal, pero también se ha descrito en pacientes sin formación de piedras, posiblemente debido a la eliminación de cristaluria y a la lesión del uroendotelio⁴⁷.

En una serie de 180 niños con HC y dolor abdominal, el 52% presentaba litiasis asociada y el otro 48% hematuria o disuria concomitante. El dolor abdominal era centrado y difuso tanto en edades tempranas como en edades más avanzadas⁴⁸.

En un estudio de Escribano y colaboradores²⁴ realizado en 76 niños hipercalciúricos de edades comprendidas entre los 7 meses y los 14 años de edad, el 52% de los casos presentaban dolor abdominal difuso, con una mala respuesta al tratamiento y a la disminución de los niveles de calciuria. En los niños de mayor edad, la clínica que observada se asoció mayoritariamente a litiasis o hematuria, que respondía al control bioquímico de la enfermedad.

▪ DESMINERALIZACIÓN ÓSEA

Un balance negativo de calcio en el organismo puede conducir a un incremento de la resorción ósea⁴⁹ pudiendo provocar una desmineralización del hueso. Este mecanismo se verá ampliado posteriormente, en el punto 1.2 de esta introducción.

▪ HIPERCALCIURIA ASINTOMÁTICA

Muchos pacientes presentaran esta alteración metabólica sin presentar manifestaciones clínicas a lo largo de su vida. Son pacientes con mayor

riesgo de desarrollar litiasis renal u osteopenia, pero estas alteraciones no siempre estarán presentes.

La hipercalciuria suele diagnosticarse a partir de la presencia de síntomas urinarios, pero si el paciente no presenta esta clínica, o sólo tiene alteraciones a nivel óseo, la hipercalciuria pasa inadvertida. El significado clínico real de esta forma silente de presentación se desconoce a largo plazo.

En la actualidad, existen pocos estudios que determinen la prevalencia de HC asintomática y su significado clínico a largo plazo.

Moore y colaboradores fueron los primeros investigadores en anunciar una prevalencia de HC asintomática de entre el 2.9 y el 6.2% en niños⁵⁰. Otros autores han reportado prevalencias del 9.1-10.2%^{51,52}. Todos ellos son estudios transversales, pero carecemos de estudios prolongados de cohortes para determinar el riesgo futuro de estos pacientes.

1.1.4. DIAGNÓSTICO DE HIPERCALCIURIA

Como ya hemos comentado la hipercalciuria se define como una excreción urinaria de calcio diaria superior a los límites fisiológicos.

En el adulto, el criterio diagnóstico de hipercalciuria se basa en el mayor riesgo observado de padecer litiasis renales^{53,54}. Sin embargo, en el niño, debido a la baja incidencia de litiasis renales y la falta de datos, el criterio diagnóstico se basa en un criterio epidemiológico y no de riesgo patológico. Así, se considera que un niño tiene hipercalciuria si excreta concentraciones de calcio superiores al 95% de la población de su edad⁴.

Uno de los principales factores que afectan la excreción urinaria de calcio es la edad. Es por este motivo que existen referencias de normalidad específicas para cada edad.

Factores como la edad, la etnia, la geografía⁵⁵, la genética⁵⁶, la raza⁵⁷, y los hábitos nutricionales pueden hacer variar los valores de la calciuria. Por este motivo se recomienda establecer un valor del ratio Ca/Cr para cada grupo de edad y población. Como se muestra en la tabla 1, existe controversia en cuanto al criterio diagnóstico de válido, ya que existen datos de diferentes autores y poblaciones⁵⁸.

En el adulto, la cuantificación de la excreción urinaria de calcio se realiza en recogida de orina de 24h. Sin embargo, en el niño, dadas las dificultades que comporta la recogida de la orina de 24 horas en edades pediátricas, Nordin y colaboradores⁵⁹ sugirieron calcular el cociente urinario Ca/Cr de dos muestras aisladas, como método alternativo. Este ratio tiene buena correlación con la orina de 24 horas y ha sido utilizado en múltiples trabajos para el diagnóstico de hipercalciuria⁶⁰.

Tabla 1. Cocientes Ca/Cr clasificados según edad y reportados por distintos estudios.

	Erol y col.⁵⁸	Sargent y col.⁴	Vachvanichsanong y col.⁶¹	Matos y col.⁶²	So y col.⁵⁵
Año	2002	1993	2000	1997	2001
Población	Turca	Americana	Tailandesa	Suiza	Africoamericana Europea
Número de sujetos	425	215	488	410	368
Limite definida como superior a la normal	Percentil 95	Percentil 95	Percentil 95	Percentil 95	Percentil 95
Percentil 95 del cocienta Ca/Cr para los distintos grupos de edad.	0-30 días; 0.52 1-<4 meses; 1.05 4-<9meses; 0.79 9-<18 meses; 0.67 18meses-<3años; 0.59 3-5 años; <0.25	<7 meses; 0.86 19 meses-3 años: 0.42 Adultos; 0.22	<6 meses; 0.75 1-<2 años; 0.40 5<10 años; 0.29	<12 meses; 0.81 1-2 años; 0.56 2-3 años; 0.5 3-5 años; 0.41	<7 meses; 0.86 8-18 meses; 0.6 19 meses-6 años; 0.42 7-16 años; 0.22

Tabla adaptada de Erol y colaboradores⁵⁸

▪ PROCEDIMIENTO DE DIAGNÓSTICO

Para el diagnóstico de la HC es preciso diferenciar aquellas situaciones en que la excreción urinaria de calcio está incrementada por procesos fisiológicos (generalmente nutricionales) o si forma parte de procesos patológicos.

Para determinar si la hipercalciuria está influenciada por algún proceso dietético, es importante realizar una pequeña historia nutricional para evitar sobrevalorar hipercalciurias fisiológicas. Entre los factores dietéticos a revisar se encuentran la ingesta elevada de proteínas, calcio, sodio y la ingesta pobre en fosfatos¹⁰.

Si la hipercalciuria fisiológica queda descartada, procederemos a la valoración de la hipercalciuria patológica. Para ello se debe valorar la función renal del niño y la existencia de urolitiasis.

En primer lugar hay que descartar la presencia de hipercalcemia que podría orientar hacia un hiperparatiroidismo primario. Cuando la calcemia es normal, hay que descartar otras causas como pueden ser tubulopatías de origen genético (que suelen cursar con alteraciones del equilibrio ácido-base, hipopotasemia, hipercloremia, hipomagnesemia o hipofosfatemia). Otras causas de hipercalciuria normocalcémicas son la depleción de fosfato, la diabetes mellitus, la artritis reumatoide juvenil y el uso prolongado de furosemida.

▪ SISTEMÁTICA DE ESTUDIO

Entre los datos de la anamnesis, es importante conocer si los pacientes tienen antecedentes familiares de litiasis cálcica, hematuria o

hipercalcemia, así como también es aconsejable recoger datos sobre la existencia de enuresis, hematuria o infecciones urinarias del niño.

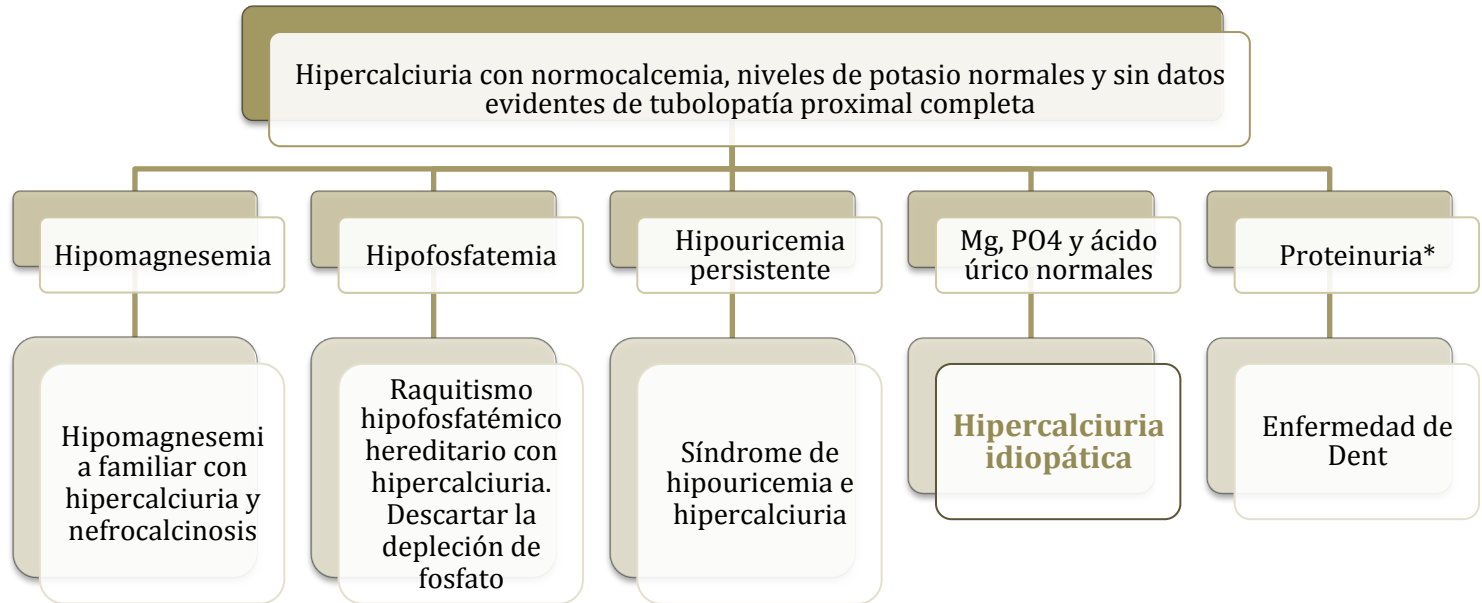
Las principales pruebas diagnósticas que constituyen la sistemática de estudio inicial de los niños con hipercalcemia se muestran en la Tabla 2.

La hipercalcemia que cursa con calcemia, K^+ , Mg , PO_4 y ácido úrico plasmáticos normales, será catalogada como hipercalcemia idiopática, descartando otros tipos de hipercalcemia y factores metabólicos (Figura5).

Tabla 2. Sistemática inicial de estudio de la hipercalcemia.

PRUEBAS DIAGNÓSTICAS	PARÁMETROS ESTUDIADOS
Analítica de sangre	Hemograma, Na, K, equilibrio acido-base, Ca, P, Mg, Fosfatasas Alcalinas, PTH, urea, creatinina, ácido úrico, proteínas, albumina, glucemia
Orina de 24 h o de una muestra aislada	Na, K, Ca, P, Mg, oxálico, cistina, citratos, urea, creatinina, ácido úrico, proteínas
Sedimento urinario y urocultivo	Presencia de cristales de Oxalato Cálcico, presencia de hematuria, descartar infección urinaria
Analítica urinaria confirmatoria	Segunda determinación urinaria para confirmar la hipercalcemia en orina: muestra de 24h (>4 mg/Kg/día) o en muestra aislada ($UCa/UCr > 0.2$)
Ecografía renal	Descartar la presencia de microlitiasis, litiasis o nefrocalcinosis
Densitometría ósea	Indicada en hipercalcemias persistentes o de predominio resortivo para valorar si la DMO se ve afectada

Figura 5. Algoritmo diagnóstico de la hipercalciuria normocalcémica.



*Proteinuria de bajo peso molecular, hipofosfatemia, hipouricemia (tubulopatía proximal incompleta), litiasis y/o nefrocalcinosis.

Adaptado de Fons 2008

1.1.5. FACTORES QUE MODIFICAN LA CALCIURIA

▪ DIETÉTICOS

Al evaluar la calciuria de una persona es importante tener en cuenta sus hábitos nutricionales ya que diferentes alimentos pueden modificar la excreción urinaria de calcio.

Entre los diferentes factores dietéticos, se ha observado que un incremento del consumo de calcio, sodio y proteínas o por el contrario una disminución de fosfato en la dieta, puede hacer incrementar la excreción urinaria de calcio¹⁰.

Calcio

En sujetos sanos se estima que entre un 6-7% del calcio ingerido en la dieta es eliminado por el riñón⁶³. Existe una correlación directa entre la absorción intestinal de calcio y la eliminación urinaria de este mineral por medio de la inhibición de la reabsorción en el túbulo proximal.

Sobrecargas dietéticas de calcio pueden contribuir a la aparición de hipercalciuria en la orina. Teniendo en cuenta que las recomendaciones de la ingesta de calcio oscilan entre 300-1300 mg/día según edad⁶⁴; valores muy superiores a los recomendados pueden justificar esta situación.⁶⁵.

Sodio

Un incremento de la natriuresis se acompaña de una inhibición de la absorción neta de calcio a nivel tubular; por cada 2,3 g de sodio excretado, se excretan unos 40 mg de calcio⁶³. Existe por tanto una correlación directa entre la ingesta de sodio y la excreción urinaria de calcio⁶⁶.

Frassetto y colaboradores⁶⁷, mostraron que un exceso de cloruro sódico en la dieta, puede inducir un bajo grado de acidosis metabólica que genera una resorción ósea lo que hace incrementar la hiper calciuria.

Fósforo

La disminución de la ingesta de fósforo procedente de la dieta, da lugar a un aumento de la síntesis $1.25(\text{OH})_2\text{D}$, incrementado el fosfato y la absorción intestinal de calcio responsable de hiper calciuria⁶⁸.

Proteínas

Los estudios muestran que el aumento de la ingesta proteica también puede contribuir al aumento de excreción urinaria de calcio. Además, algunos autores, concluyen que la ingesta proteica es el principal regulador de la excreción urinaria de calcio, por encima incluso, de la ingesta diaria de calcio^{69,70}. Por cada 50 gramos de proteína ingerida, se excreta 1.6 mmol en 24 h de calcio en orina⁷¹.

El aumento de la ingesta de proteínas de la dieta aumenta la producción neta del ácido debido a la liberación de protones por la oxidación del azufre en los aminoácidos metionina, cisteína y cistina. Este aumento de la producción neta de ácido inhibe la reabsorción tubular de calcio. Además, estudios en ratones, han mostrado que la inducción de acidosis conduce también a una disminución de la expresión de los canales tubulares apicales de calcio en el túbulo distal. El incremento de la carga ácida estimula además la movilización de los sistemas buffer del hueso ricos en calcio y estimula la secreción de prostaglandina E2, lo cual promueve la resorción ósea y el aumento de la calciuria

Por otra parte, existen estudios tanto en animales cómo en humanos, que muestran una clara asociación entre ingesta proteica y función renal⁷²⁻⁷⁵. Esto es de interés en la presente disertación, porque existe la posibilidad que un aumento del tamaño y la función renales pudiesen incrementar la excreción urinaria de calcio.

Jakobsson B, et al., en un estudio con ratas, examinó el efecto que tenía una ingesta elevada de proteína en la función y volumen renal. Para ello, clasificó los animales en función de su ingesta proteica (12%, 21%, 50%) y observó que el grupo con mayor contenido de proteínas, tenía, a parte de un elevado peso corporal, un volumen renal y un filtrado glomerular más elevado que los de baja ingesta proteica. Los autores mostraron también, que una vez normalizada la dieta, tanto el volumen renal y su función renal se normalizaba. Lo que les llevó a pensar, que éste efecto podía ser reversible⁷².

En un estudio con niños sanos alimentados con lactancia artificial, mostraron que sus riñones eran más grandes comparándolos con los niños que habían sido alimentados con lactancia materna⁷⁶. Estos autores pensaron que esta diferencia podría producirse debido al mayor contenido proteico que contenían las fórmulas infantiles en relación a la leche humana⁷⁷. Posteriormente, un ensayo clínico nutricional comparó el crecimiento y funcionalidad renal entre niños sanos alimentados con fórmula infantil con mayor y menor contenido proteico, y niños alimentados con lactancia materna. A los 6 meses de edad, los niños que habían sido alimentados con la fórmula infantil con mayor contenido proteico, tuvieron un volumen renal significativamente más elevado que

los que habían sido alimentados con fórmula infantil con menor contenido proteico⁷⁵.

El mecanismo a través del cual la ingesta proteica aumentaría el volumen renal es la sobrecarga funcional renal que se produciría por un aumento de metabolitos nitrogenados (derivados de la proteína) que habría que excretar⁷⁵. Paralelamente, en animales⁷⁸ se ha observado que un aumento de la ingesta proteica estimula la secreción de Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) y que éste se asocia a un incremento del volumen del riñón. En lactantes sanos, Luque y colaboradores⁷⁹ demostraron que IGF1 mediaba parcialmente este crecimiento del riñón inducido por el aumento de ingesta proteica.

Autores como Lentine o Schmidt y colaboradores, sugieren que el incremento renal producido por la sobrecarga funcional generada por los metabolitos nitrogenados es reversible^{80,81} cuando finaliza el aumento del consumo proteico. Sin embargo, Luque y colaboradores⁷⁹, observaron que esta elevada ingesta proteica, acompañada de un aumento del IGF-1, se asociaba también a un incremento del peso corporal y del Índice de Masa Corporal (IMC). Éste aumento del IMC parecía mantenerse a lo largo del tiempo y esto sugería que el incremento del volumen renal mediado por IGF-1 podría también tener efectos a largo plazo.

En resumen, la ingesta proteica podría estimular la excreción urinaria a través de varios mecanismos:

- Aumento de la producción neta de ácido inhibiendo la reabsorción tubular de calcio
- Aumento de la resorción de calcio óseo

- Aumento de la función renal por sobrecarga funcional
- Crecimiento de volumen renal (por sobrecarga funcional y por estimulación del eje IGF-1)

- **NO DIETÉTICOS**

Existen diferentes factores no dietéticos que también pueden influir en la excreción urinario de calcio:

Etnia y población

Diferentes estudios sugieren la calciuria puede variar dependiendo de las áreas geográficas y que la prevalencia de hipercalciuria puede variar entre regiones incluso de un mismo país. Esto puede ser debido a causas genéticas y/o de raza, entre otros motivos.

El estudio realizado por Melian y sus colaboradores, mostraron que la población de Gómera (pequeña población con un elevado índice endogámico) tenía una prevalencia superior de hipercalciuria respecto al grupo control (16% vs. 3.8% respectivamente) y que era procedente de la capital de la provincia⁵⁶.

Edad

Son varios los autores que han observado una relación inversa entre la edad del paciente y la excreción urinaria de calcio. En la Tabla 3 se muestran los límites de normalidad de calciuria en edad pediátrica; observamos que los valores de calciuria son más elevados en el periodo de lactancia si lo comparamos con las demás etapas de la vida⁵⁵; el hecho de que haya una menor excreción urinaria de creatinina por peso corporal o

una mayor absorción de calcio durante la lactancia podrían ser los motivos de que la excreción urinaria de calcio sea mayor a edades más bajas⁸².

Tabla 3. Límites de normalidad de calciuria en pediatría basados en datos estadísticos, mediante los cuales se establece el percentil 95 como límite de normalidad.

EDAD	mg/mg	mmol/mmol
De 0-6 meses	<0.80	<2.3
De 7-12 meses	<0.6	<1.7
De 12-24 meses	<0.5	<1.4
≥2 años	<0.21	<0.59

Tabla adaptada de Butani y colaboradores⁶⁰.

1.1.6. TRATAMIENTO DE LA HIPERCALCIURIA

La HC es una anomalía metabólica que puede desarrollar litiasis, generalmente en edad adulta, y que también puede tener un efecto negativo sobre la salud ósea a largo plazo. Por lo tanto, los objetivos del tratamiento deberían concretarse en²⁰:

- Establecer medidas preventivas del desarrollo de litiasis renal, generalmente a través de recomendaciones dietéticas.
- En el caso de que exista clínica urológica, litiasis u osteopenia, establecer un tratamiento que tienda a normalizar la calciuria y que ayude a controlar la sintomatología por medio de medidas dietéticas o farmacológicas.

▪ RECOMENDACIONES DIETÉTICAS

Hasta el momento se han realizado pocos ensayos clínicos randomizados, y ninguno de ellos se ha realizado en niños; por lo tanto las recomendaciones deben tomarse con mucha precaución¹³.

El objetivo principal en niños diagnosticados de HC es reducir la excreción de calcio y oxalato o conseguir una menor formación de complejos de Oxalato Cálcico urinario.

Una medida dietética universal, bien aceptada, es el incremento en la ingesta de agua. La ingesta de agua reduce la concentración de calcio urinario disminuyendo el índice de cristalización. Se puede conseguir así una disminución de la aparición de litiasis y el control de gran parte de la sintomatología.

Otras medidas generales a tener en cuenta, serían hacer una ingesta de calcio acorde con la edad y una restricción parcial de la ingesta de proteínas de origen animal y de sal.

En realidad, la única recomendación que ha mostrado tener un efecto clínico en adultos con HC mediante un ensayo clínico, es el seguimiento de una dieta pobre en sal y proteínas de origen animal, acompañada de una ingesta normal de calcio y con un incremento de la ingesta de líquidos. Esta dieta seguida durante 5 años ha sido capaz de disminuir los niveles de calciuria y oxaluria, a la vez que ha disminuido el riesgo de litiasis recurrentes; otras combinaciones dietéticas no han mostrado tener eficacia a largo plazo¹³.

▪ RECOMENDACIONES FARMACOLÓGICAS

El uso de fármacos debe restringirse a los pacientes con clínica urológica persistente, litiasis y osteopenia importante. Los agentes más utilizados son el citrato potásico y las tiazidas, aunque sólo estas últimas han demostrado su eficacia clínica con ensayos clínicos y de calidad metodológica contrastada⁸³.

1.2. SALUD ÓSEA

La salud ósea suele relacionarse con su contenido en calcio, entre otros parámetros. Este contenido cálcico es un reflejo de la solidez de la microestructura del hueso y se ha relacionado con el riesgo de fracturas patológicas. El contenido mineral óseo se irá modificando con la edad, desarrollo y estado madurativo en los niños.

La osteoporosis se define como una enfermedad sistémica, caracterizada por la disminución de la DMO y por una alteración en la microarquitectura del hueso. La fragilidad ósea producida dará lugar a un aumento del riesgo de padecer algún tipo de fractura ósea⁸⁴.

La salud ósea se determina comparando los valores de desviación estándar (DS) de la DMO medida de la cadera, columna vertebral o antebrazo con la DMO media medida de la población de referencia⁸⁵.

Para el diagnóstico de osteoporosis, la Organización Mundial de la Salud (OMS) usa puntuaciones T-score para conseguir mejor validez entre las correlaciones de la DMO y el riesgo de fracturas de las distintas poblaciones⁸⁶. La OMS define osteopenia y osteoporosis con puntuaciones

T menores a -1 y -2.5 DE respectivamente⁸⁵. Sin embargo, no existe un consenso para la interpretación de los resultados de la DMO en edades pediátricas; generalmente se usan los valores anteriormente descritos pero aplicados a la puntuación Z y para así comparar los valores entre los niños de la misma edad, sexo y etnia⁸⁶.

Gordon y colaboradores propusieron describir a los niños con Z-score por debajo del -2, como niños con “baja densidad mineral ósea por su edad cronológica”(tabla 4)⁸⁷.

Tabla 4. Diagnóstico de osteoporosis según criterios densitométricos en edad pediátrica.

DIAGNÓSTICO	z-score
NORMAL	> -1 DE
OSTEOPÉNICO	Entre -1 y -2 DE
BAJA DENSIDAD MINERAL ÓSEA POR SU EDAD CRONOLÓGICA	≤ -2 DE

DE.- Desviación Estándar. Tabla adaptada siguiendo el criterio de Gordon⁸⁷

La adecuada adquisición de masa ósea en las primeras etapas de la vida, y la disminución de los fenómenos de resorción son los factores determinantes en relación a la osteopenia, a la osteoporosis y a las fracturas en la edad adulta².

Se ha observado que el aumento de un 10% del pico de masa ósea, retrasa 13 años el desarrollo de osteoporosis⁸⁸. Es importante que mientras dure el periodo de ganancia de masa ósea, no haya ningún tipo de interferencia⁸⁹; en el caso de que esto ocurriera durante el primer periodo (de 0 a 3 años) podría ser compensado más adelante, pero si esto

sucediera durante la pubertad, sería difícil compensarlo y aumentaría el riesgo de que la persona tuviera osteoporosis en la vida adulta².

Se ha demostrado que desde el nacimiento hasta los 3 años de vida, el incremento de la DMO en ambos sexos es muy rápido. Después, prosigue similar pero a menor ritmo hasta los 10 años en que la DMO de las niñas es superior. Es a partir de los 11 años y hasta los 14, coincidiendo con el desarrollo puberal, cuando en las niñas se produce el máximo pico de adquisición de DMO, tanto a nivel lumbar como femoral. A los 16 años, la adquisición de masa ósea se ralentizará cesando aproximadamente dos años después.

En los niños, en cambio, el período de máxima mineralización es de los 13 a los 17 años; a partir de esta edad, se producirá una ralentización hasta alcanzar los 20 años, momento en que cesará².

Se estima que a finales de la segunda década de vida, se adquiere entre el 90-95% del total de pico de masa ósea. Tanto factores endógenos (genéticos y hormonales) como factores exógenos (nutricionales y de actividad física) determinaran este pico⁹⁰. Otros factores que pueden influir son la exposición solar, la ingesta de calcio o la existencia de una pérdida de calcio urinario, lo que podría dar lugar a una baja DMO.

1.2.1. FACTORES DE RIESGO EN LA INFANCIA PARA EL DESARROLLO DE OSTEOPOROSIS

Los factores de riesgo de osteoporosis en la infancia, los podemos clasificar en: factores modificables, parcialmente modificables o no modificables, en función de si se puedan prevenir o no (Tabla 5)².

Tabla 5. Factores de riesgo para el desarrollo de osteoporosis en la infancia.

FACTORES MODIFICABLES	Nutricionales	Ingesta calórica Ingesta proteica Ingesta de calcio Ingesta de fósforo Vitamina D Otros (Mg, Si, Na/K, vitaminas K, B12)
	Estilos de vida	Ejercicio
FACTORES PARCIALMENTE MODIFICABLES	Hormonales	Desarreglos hormonales con influencia en la mineralización del esqueleto Tratamiento con corticoides
	Enfermedades de riesgo	Hipercalciuria idiopática entre otras.
FACTORES NO MODIFICABLES	Genética Raza Edad	

Tabla adaptada de Alonso Franch, M. 2010²

Nosotros en este trabajo nos centraremos en los factores modificables y parcialmente modificables, descartando los no modificables como la genética⁹¹, la raza blanca⁹² y la edad⁹³ ya que nuestros estudios se realizaron en una cohorte de niños con características similares, como explicaremos más adelante.

▪ FACTORES MODIFICABLES

FACTORES NUTRICIONALES

Factores nutricionales como la ingesta calórica, proteica, calcio, fósforo y vitamina D son factores determinantes que pueden modificar la salud del hueso.

Ingesta calórica

La ingesta calórica, a través de la modulación del peso corporal es uno de los factores determinantes de la DMO ya que puede influir en la ganancia o en la pérdida de masa ósea tanto en niños como en adolescentes⁹⁴.

Se ha relacionado la desnutrición o la disminución excesiva de ingesta calórica con una baja DMO, así lo mostraron Bachrach y colaboradores en un estudio realizado con 18 niñas diagnosticadas de anorexia nerviosa. Los autores sugirieron que el IMC bajo es un predictor importante en la reducción de masa ósea⁹⁵.

Al contrario, se ha mostrado una asociación ente el sobrepeso/obesidad y un aumento de los niveles de DMO, que podrían deberse al aumento de carga mecánica que soportan los individuos con sobrepeso y obesidad, y/o a la fuerza muscular que éstos sujetos tienen que soportar durante la locomoción^{96,97}.

Ingesta proteica

El aporte de proteínas se ha considerado uno de los factores más importantes en la salud ósea; su ingesta se ha relacionado tanto con el contenido mineral óseo (CMO) como con la DMO⁹⁸.

Existen estudios que muestran que el consumo elevado de proteínas puede ser perjudicial para la salud ósea ya que, la acidosis metabólica crónica que produce, puede aumentar la calciuria⁹⁹.

Al contrario, algunos estudios han publicado que una ingesta pobre en proteínas también puede afectar la salud del hueso, ya que podría haber una deficiencia en la estructura de la matriz ósea⁹⁹.

Así pues, el aporte de proteínas en la dieta debe ser adecuado en las etapas vulnerables como es la adolescencia, periodo durante el cual se adquiere la mayor proporción de masa ósea, o la menopausia, cuando se produce una pérdida de masa ósea, y la vejez, que es el momento en que la ingesta proteica puede verse disminuida¹⁰⁰.

Ingesta de calcio

Numerosos estudios han mostrado una asociación directa entre la ingesta de calcio y la DMO tanto en niños como en adolescentes^{101,102}.

Su absorción dependerá de los niveles de la vitamina D, de un adecuado aporte de fosfatos y de los alimentos que favorezcan o que interfieran su absorción²; la lactosa, la sacarosa, y los citratos son sustancias que favorecerían la absorción de calcio; los fitatos y oxalatos, en cambio, serían sustancias que podrían interferir su absorción.

Como se ha mencionado anteriormente, la adolescencia es un periodo crítico para la correcta adquisición de masa ósea. Las necesidades de este nutriente se ven aumentadas y pero en muchas ocasiones el consumo de lácteos en esta etapa se ve disminuido. Los adolescentes presentan una tendencia a sustituir el consumo leche por zumos o bebidas azucaradas lo que conlleva a no alcanzar las ingestas recomendadas de calcio. Niños con

bajas ingestas de calcio en edad puberal han mostrado tener más riesgo de fracturas en edad adulta¹⁰³.

Ingesta de fósforo

Junto con el calcio, el fósforo es un mineral muy importante para la formación ósea, y por tanto es importante el suministro adecuado.

La pérdida de fósforo sérico alteraría la mineralización ósea, comprometiendo la función de los osteoclastos. En nuestra población, pero, su déficit es complicado, ya que este mineral se encuentra en la mayoría de alimentos y su biodisponibilidad es muy elevada (60-70%)².

Por otro lado, una ingesta elevada de fósforo inhibe el aumento de 1.25(OH)₂ D dando lugar a bajas concentraciones de calcio en suero sanguíneo y a elevadas concentraciones de PTH, incrementado así una resorción ósea que podría ocasionar efectos negativos en la salud ósea a largo plazo^{104,105}.

Vitamina D

La vitamina D juega un papel muy importante en la homeostasis del Ca/P y mejora la absorción intestinal y renal de ambos. Existen dos formas de obtener esta vitamina; de manera endógena transformando la provitamina de la piel en calciferol mediante las radiaciones solares o a partir de los alimentos mediante colecalciferol (D₃, si proviene de fuente animal) o mediante ergocalciferol (D₂, si procede de alimentos vegetales). Son pocos los alimentos ricos en esta vitamina, por lo que es muy difícil cubrir los requerimientos nutricionales a través de ellos^{2,106}.

Los estilos de vida actuales, hacen que tanto los niños como los adolescentes estén sometidos a una baja exposición solar. Por este motivo

y porque son pocos los alimentos que contienen esta vitamina, existe en nuestra población un déficit importante que puede dar lugar a un déficit de absorción de calcio y fósforo intestinal. Esto provocaría tener disminuido el depósito de esta vitamina en el hueso^{106,107}.

En caso de déficit, se recomienda realizar más actividades al aire libre y si eso no fuera posible sería conveniente recurrir a la suplementación oral^{108,109}.

ESTILOS DE VIDA: **ACTIVIDAD FÍSICA**

El ejercicio es otro de los factores modificables importantes que puede influir en la salud ósea.

Una de las principales funciones del esqueleto es asegurar la integridad mecánica para la locomoción.

La masa ósea se adapta a la tensión producida por la carga mecánica y la actividad muscular, por este motivo la masa muscular y la fuerza se consideran predictores de la resistencia ósea¹¹⁰.

Los niños y adolescentes que han sido físicamente más activos, tienen una DMO más elevada comparados con los que han estado en reposo prolongado o los que han estado inactivos¹¹¹.

Es importante realizar ejercicio en todas las etapas de la vida, sobre todo durante el periodo de crecimiento, ya que el CMO de los individuos se ve mejorado y ayuda a adquirir una masa ósea adecuada que podría mantenerse en la edad adulta^{112, 113}. Un simple programa de ejercicios físicos en edad escolar ha mostrado producir una mejoría ósea tanto en la zona de la cadera como en la columna^{114,115}.

El tiempo dedicado al ejercicio es muy importante tanto en niños como en adolescentes. Se recomienda realizar unos 60 minutos de actividad física

al día. Exceder excesivamente este tiempo y/o realizar actividades físicas muy vigorosas durante este periodo, puede tener efectos adversos dando lugar a un retraso de la pubertad, amenorrea o baja DMO^{116,117}.

La duración, la frecuencia y la intensidad de la actividad física pueden determinar positiva o negativamente la DMO¹¹⁸.

▪ FACTORES PARCIALMENTE MODIFICABLES

TRANSTORNOS HORMONALES

Los esteroides gonadales, la hormona de crecimiento (GH) y el factor de crecimiento análogo a la insulina (IGF-1) son hormonas que participan en la adquisición de la DMO durante la etapa de crecimiento y adolescencia¹¹⁸.

Trastornos hormonales como el hipogonadismo hipogonadotrópico, el retraso puberal, la deficiencia de aromatasas¹¹⁹ y la deficiencia de estrógenos o de sus receptores han mostrado relación con un pico de masa ósea reducido^{116,120,121} y, por lo tanto, un incremento del riesgo de padecer osteoporosis.

FÁRMACOS

Algunos medicamentos se han asociado a la disminución de la DMO y al incremento de fracturas óseas. Es el caso de los inhibidores de la bomba de protones, inhibidores selectivos de los receptores de la serotonina, tiazolidinedionas, anticonvulsivos, acetato de medroxiprogesterona, la terapia de privación hormonal, inhibidores de la calcineurina, quimioterapias y anticoagulantes y los glucocorticoides.

Los glucocorticoides, que son un tipo de corticoides que se usan comúnmente para tratar enfermedades autoinmunes, inflamatorias,

dermatológicas, respiratorias y/o malignas, han mostrado tener también un efecto negativo sobre los osteoblastos, los osteocitos y osteoclastos ya que promueven la excesiva resorción ósea lo que provocará la disminución de la DMO y un aumento del riesgo de fractura ósea¹²².

Se estima que alrededor del 30-50% de los pacientes que reciben glucocorticoides desarrollan fracturas¹²³.

ENFERMEDADES DE RIESGO

Se han descrito numerosas enfermedades de riesgo, que podrían estar relacionadas con la osteoporosis. La malabsorción intestinal, la enfermedad celíaca o la enfermedad inflamatoria intestinal son algunos ejemplos².

En esta tesis nos centraremos en los efectos que la hipercalcemia idiopática puede tener sobre la salud ósea.

1.2.2. RELACIÓN DE LA HIPERCALCIURIA CON LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA

La hipercalcemia idiopática persistente se ha descrito como una interferencia de una correcta adquisición de masa ósea por su continuada y elevada excreción urinaria de calcio. Este hecho puede aumentar el riesgo de padecer osteopenia, osteoporosis y fracturas a largo plazo^{2,89}.

Varios autores han mostrado una asociación entre hipercalcemia y disminución de la DMO. La mayoría de estudios se han realizado en

adultos²² y aunque también existen trabajos en edad pediátrica¹²⁴ existe aún muy poca información en este grupo de población.

En una serie de 73 niños hipercalcémicos con una edad de 8.1 ± 3.6 años, García Nieto y colaboradores²² mostraron que el 30% presentaba una DMO de la columna lumbar inferior a -1 DE, sugiriendo osteopenia.

Polito y colaboradores¹²⁵, observaron una prevalencia de 11.5% de DMO menor a -1 DE en su serie de 36 sujetos hipercalcémicos de 5.6 ± 2.8 años. Esta diferencia de prevalencias podría deberse a la diferencia de edad de los participantes.

Es importante valorar que modelo temporal presenta la HC. Si es la HC es permanente, la edad se relacionará de forma inversa con la DMO, ya que a mayor edad, se habrá producido un período más largo de elevada resorción ósea, provocando un mayor riesgo de osteopenia. En cambio, en una HC intermitente, los periodos donde no existe pérdida excesiva de calcio permiten la recuperación del hueso, por lo que la probabilidad de osteopenia es menor.

Estudios realizados hasta la fecha han revelado una disminución de la DMO en los pacientes hipercalcémicos, independientemente del tipo de HC. Esta disminución es más marcada en la columna, y en menor medida en el cuello femoral⁸⁹.

En 2003, Penido y colaboradores evaluaron la DMO de los niños HC en diferentes zonas (columna lumbar, cuello femoral y cuerpo entero), mostrando una mayor alteración metabólica en el hueso trabecular de la columna lumbar y una resorción más temprana del hueso³.

Así pues, si el riesgo de padecer osteopenia, osteoporosis y fracturas empieza en edades pediátricas, deberíamos poder diagnosticarla y prevenirla de forma más precoz.

1.2.3. MECANISMO DE DESMINERALIZACIÓN

La pérdida de hueso en niños con HC puede ser debida a un aumento de la resorción ósea, una disminución de la formación ósea, o de ambos mecanismos a la vez dependiendo del tipo de HC.

Se ha observado que la disminución ósea de pacientes adultos con HC de tipo absorptivo se produce por un déficit de la formación del hueso^{126,127}. En cambio, se ha visto que en los pacientes con HC de tipo renal existe una mayor resorción ósea¹²⁸.

Los niños hipercalciúricos tienen un crecimiento lineal correcto en función a su edad, por este motivo se cree que el principal mecanismo implicado en la desmineralización ósea infantil es el aumento de la resorción ósea y/o el recambio óseo¹²⁹.

La resorción ósea se muestra principalmente en los huesos trabeculados como lo es la columna lumbar, por lo que esta zona es la que se considera más sensible para detectar los defectos de mineralización^{3,22,130,131}.

En 1992, Perrone y colaboradores¹³² observaron la primera serie de niños con hipercalciuria idiopática a los que se les realizó densitometría ósea. Observaron que el 20% de los casos presentaban osteopenia lumbar. Estudios posteriores han confirmado la asociación entre la osteopenia y la HC en niños sintomáticos, con un rango de entre el 30 y 47%^{22,129}.

Un estudio con 46 pacientes mostró valores significativamente más bajos de DMO en la columna lumbar y en el fémur en aquellos casos diagnosticados con una hipercalciuria continua (hipercalciuria presente en todas las orinas evaluadas) en comparación con los que tenían una hipercalciuria intermitente¹²⁴.

Resultados semejantes se obtuvieron en un estudio longitudinal, donde la DMO era menor en la columna lumbar en aquellos pacientes sintomáticos con HC persistente comparado con los pacientes con HC intermitente¹³³.

Los estudios anteriormente citados fueron realizados con niños, y alerta sobre la posibilidad de que haya un factor de riesgo oculto en la osteoporosis del adulto.

Debemos profundizar si la desmineralización en el niño es permanente o si puede revertirse con el tratamiento de la hipercalciuria o con el crecimiento.

Penido y colaboradores evaluaron la DMO de 80 niños hipercalciúricos osteopénicos antes y después de tratamiento con citrato potásico aislado, o asociado a tiazidas por periodos de al menos un año. Después de 6 años de seguimiento los investigadores pudieron mostrar una mejora significativa en la DMO de estos pacientes⁸⁹. No se trataba de un ensayo clínico, sino de un estudio observacional por lo que sus conclusiones hay que tomarlas con precaución.

En otro estudio observacional, García Nieto y colaboradores evaluaron una serie de 54 niños hipercalciúricos y osteopénicos a los que se trató o no con tiazidas. Tras un seguimiento de alrededor de 2 años y medio, se

observó que la DMO había mejorado de forma espontánea en 23 niños control (72%) y en 12 de los 22 pacientes con tiazidas (54%). Los pacientes que tuvieron mejoría de la DMO al final de tratamiento, mostraron un aumento del IMC¹³⁴.

Así pues, parece que el crecimiento, más que el tratamiento farmacológico para la recuperación ósea, es el factor determinante en la recuperación ósea¹³⁴.

Basándonos, con los resultados anteriores, parece que la DMO en el niño puede recuperarse, modificarse y alterarse con el paso de los años, y puede estar relacionada con la DMO a la edad adulta.

Existen 3 mecanismos predominantes, implicados en los trastornos de remodelación ósea.

Factores genéticos

En 2002, Freundlich y colaboradores estudiaron a 21 niños con HC y a sus respectivas madres, todas ellas asintomáticas. Observaron que ocho de los niños (38%) y siete de las madres (33%) tenían la DMO reducida. Los hijos de madres con una DMO considerada como osteopenia, tenían los valores DMO de la columna lumbar más bajos que los hijos de madres con DMO normal. El estudio concluyó que la disminución de la DMO en los adultos con HC puede empezar en edades tempranas, pudiendo haber estado influenciada por factores genéticos y pudiendo también representar un factor de riesgo de osteoporosis¹³¹.

García-Nieto y colaboradores hicieron un estudio similar; analizaron la DMO a una serie de niñas diagnosticadas de HC y a sus madres

asintomáticas. Mostraron que la DMO de la columna lumbar era significativamente menor en las niñas diagnosticadas de HC cuyas madres osteopénicas, comparado con las niñas con HC cuyas madres no eran osteopénicas; lo cual también hacía pensar en el importante papel que tenían los factores genéticos¹³⁰.

Hormonas y citoquinas locales

En adultos con HC absorptiva se han detectado niveles elevados de calcitriol y de sus receptores activos en monocitos y tejidos diana. En dosis altas, el calcitriol aumenta la resorción ósea y disminuye la síntesis de colágeno de los huesos¹³⁵. En niños con osteopenia estos resultados no han podido ser reproducidos en algunos de los casos²².

En referencia a las citoquinas, la interleucina 1 (IL-1) se ha correlacionado como un estimulador muy potente del proceso de resorción ósea; un estudio mostró que la IL-1 estaba incrementada en pacientes con HC resortiva, explicando la DMO lumbar disminuida de sus pacientes. Otras citoquinas como son la interleucina 6 y el TNF-alfa también han mostrado estar incrementadas en pacientes diagnosticados de HC¹²⁹.

Factores dietéticos

La prostaglandina E2 (PGE2) es otro potente estimulador de la resorción ósea, que puede inhibir la síntesis osteoblástica de colágeno. La PGE2 puede aumentar por un estímulo inflamatorio de las citoquinas, pero puede aumentar también durante una carga ácida nutricional y ser uno de los factores efectores de la resorción ósea en medio ácido. No se sabe si

una dieta alta en proteína animal (acidogénica) puede aumentar la PGE2 a concentraciones suficientes para afectar a la remodelación ósea.

En un de estudio de García Nieto y colaboradores, los niños con HC tuvieron una mayor excreción urinaria de PGE2 y una menor excreción urinaria de citrato. Sin embargo, aunque la excreción urinaria de PGE2 se correlacionó significativamente con la calciuria, no lo hizo con la DMO²².

En los adultos con HC y nefrolitiasis, se utiliza frecuentemente la restricción dietética de calcio para disminuir la excreción urinaria de calcio. Sin embargo, la restricción de calcio puede promover secundariamente hiperparatiroidismo, lo que lleva a un aumento de la resorción ósea y reducción de la masa ósea. Esta hipótesis se basa en estudios epidemiológicos y clínicos. Aunque no se han realizado estudios comparables en niños con HC, no se recomienda tampoco realizar una restricción dietética de calcio que provoque balances negativos de este mineral¹²⁹.

En esta tesis, por un lado, se estudiaran los posibles efectos que la hipercalciuria idiopática puede tener sobre la densidad mineral ósea en niños asintomáticos a los 7 años de edad. Por otro lado, se analizará cómo la alimentación durante los primeros meses de vida influye en la calciuria.

2. HIPÓTESIS

2. HIPÓTESIS

- Niños asintomáticos afectados de hipercalciuria idiopática asintomática podrían tener una densidad mineral ósea disminuida.
- El tipo de alimentación en el lactante podría modificar de forma sustancial los valores normales de excreción urinaria de calcio.

3. OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

- 1.- Valorar la posible influencia de la hipercalciuria idiopática en niños sanos asintomáticos sobre la densidad mineral ósea.
- 2.- Valorar la influencia del tipo de lactancia sobre la excreción urinaria de calcio en lactantes de 3 y 6 meses de vida

OBJETIVOS SECUNDARIOS

- 1.- Determinar la prevalencia de hipercalciuria idiopática en una población sana a los 7 años de edad.
- 2.- Valorar la influencia de la dieta sobre la calciuria a los 7 años de edad.
- 3.- Determinar la influencia de diversos factores sobre la densidad mineral a los 7 años de edad.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. POBLACION

El presente trabajo es un análisis secundario de los participantes del estudio EU Childhood Obesity Programme (EU CHOP)¹³⁶; un ensayo clínico Europeo aleatorizado doble ciego llevado a cabo en 5 países (Alemania, Bélgica, Italia, Polonia y España). Los participantes eran niños alimentados con fórmula artificial, aparentemente sanos, que fueron reclutados durante las 8 primeras semanas de vida y fueron asignados aleatoriamente a tomar una fórmula infantil con mayor (AP) o menor (BP) contenido proteico durante el primer año de vida.

Las concentración proteica de cada una de las fórmulas se correspondía con los rangos alto y bajo de la normativa europea para las fórmulas infantiles en el momento en que se llevó a cabo el estudio¹³⁷. Las composiciones de cada una de las fórmulas de estudio (AP y BP), tanto de inicio como de continuación, se muestran en la Tabla 6.

Paralelamente se reclutó un grupo de niños alimentados con lactancia materna, que formaron parte de un grupo control observacional de referencia (n total = 1678).

El EU CHOP ha sido objeto de financiación de la Comisión Europea a través de diferentes Framework Programmes. Los datos que se presentan en esta tesis fueron recogidos durante la fase del estudio en que éste formaba parte del proyecto NUTRIMENTHE (un Consorcio Europeo formado por diferentes estudios que valoraban la influencia de la nutrición sobre el desarrollo cognitivo, financiado por el VII Framework Programme)

Tabla 6. Composición en macronutrientes, minerales y vitaminas de las fórmulas de estudio consumidas durante el estudio en los 5 países.

	FÓRMULA DE INICIO		FÓRMULA DE CONTINUACIÓN	
	BP	AP	BP	AP
Energía (Kcal/100mL)	69.9	69.8	72.7	72.5
Proteínas (g/100mL)	1.25	2.05	1.6	3.2
(g/100 Kcal)	1.77	2.9	2.2	4.4
% de energía	7.1	11.7	8.8	17.6
Lípidos (g/100mL)	3.9	3.5	4.0	3.27
Carbohidratos (g/100 mL)	7.5	7.5	7.6	7.6
Minerals				
Sodio (mg/100mL)	27	25	40	47
Calcio (mg/100mL)	84	78	117	120
Fósforo (mg/100mL)	65	70	87	95
Vitaminas				
Vitamina D (µg/100mL)	1	1	1.5	1.5

BP.- Fórmula con menor contenido proteico. AP.- Fórmula con mayor contenido proteico. Tabla adaptada de Koletzko y colaboradores¹³⁸.

Objetivo 1.

Para valorar el objetivo 1, se utilizó una submuestra del estudio compuesta por los niños españoles de 7 años a los que se realizó un test diagnóstico de hipercalciuria y una densitometría ósea.

Se excluyeron del análisis todos los niños que pudieran tener clínica compatible con hipercalciuria para seleccionar un subgrupo de pacientes con hipercalciuria asintomática. Por tanto se excluyeron los niños historia

de hematuria, cólico renal o urolitiasis; así como también los pacientes que presentaron alguna patología renal a los 6 meses.

Objetivo 2.

Para este objetivo se tomaron datos de todos los niños del estudio a los 3 y 6 meses de edad.

En concreto, a los 3 y 6 meses se valoró antropometría, ingesta, calciuria y otros parámetros urinarios. Además, a los 6 meses se realizó una extracción sanguínea y una ecografía para valorar el volumen renal. Se excluyeron del análisis los niños que presentaron algún tipo de patología renal diagnosticado en la ecografía.

De entre los parámetros valorados para la presente tesis, nos centramos en el análisis de la calciuria a los 3 y 6 meses y a los 7 años de edad.

4.2. PRINCIPALES MEDIDAS

4.2.1. ANTROPOMETRÍA

- *A LOS 3 Y 6 MESES Y A LOS 7 AÑOS DE EDAD*

Variables medidas

- Peso (Kg)
- Talla (cm)

Variables calculadas

- Índice de Masa Corporal (IMC) (Kg/m^2)
- Peso z-score

- Longitud z-score
- IMC z-score

Peso. El peso del nacimiento se obtuvo de los datos de los centros hospitalarios. A los 3 y 6 meses los participantes fueron pesados en una báscula SECA 336 (SECA, Hamburgo, Alemania) (precisión: $\pm 0.10\text{kg}$) sin ropa ni pañal. En el caso de que el niño no estuviera quieto o calmado en el momento de la medición, el lactante fue pesado junto a su madre en una báscula SECA 701 (SECA, Hamburgo, Alemania) (precisión: $\pm 0.05\text{ Kg}$) y posteriormente, ésta, se volvía a pesar en solitario; la diferencia de estas dos mediciones daba lugar al peso del niño.

Esta medida se realizó por duplicado.

A los 7 años los participantes fueron pesados en la báscula SECA 701 (SECA, Hamburgo, Alemania) (precisión: $\pm 0.05\text{kg}$).

Para su correcta valoración, se solicitó a los sujetos que se pusieran encima de la plataforma de la báscula, situándose en el centro, de forma que el peso se distribuyera uniformemente, con ropa interior y sin zapatos.

Talla. Se utilizaron los datos de los centros hospitalarios para obtener la talla al nacimiento. A los 3 y 6 meses de edad los participantes fueron medidos con un tallímetro SECA 232 (precisión: $\pm 1\text{mm}$). Esta medición se hizo con la colaboración de uno de los padres.

A los 7 años se usó el tallímetro SECA 242 (precisión: $\pm 2\text{mm}$). Se realizaron 2 mediciones para cada uno de los participantes.

Índice de Masa Corporal (IMC). El IMC es un indicador que relaciona el peso y la talla. Se calculó dividiendo el peso de una persona por el cuadrado de su talla (Kg/m^2). El $\text{IMC} = \text{Peso (kg)}/\text{Longitud}^2(\text{cm})^{139}$.

Puntuación z o z-score. Las variables de peso, longitud y IMC se expresaron como puntuación z de acuerdo a las referencias de la OMS^{140,141} mediante el programa WHO Anthro 2009) de la OMS¹⁴².

4.2.2. VALORACIÓN DE LA INGESTA

▪ A LOS 3 Y 6 MESES

Variables

- Ingesta calórica (Kcal/día).
- Ingesta proteica (g/día).
- Ingesta de sodio (mg/día).
- Ingesta de calcio (mg/día).
- Ingesta de fósforo (mg/día)
- Vitamina D ($\mu\text{g}/\text{día}$)

Variables calculadas

- Ingesta calórica (Kcal/Kg·día).
- Ingesta proteica (g/Kg·día).
- Ingesta de sodio (mg/Kg·día).
- Ingesta de calcio (mg/Kg·día).
- Ingesta de fósforo (mg/Kg·día)
- Vitamina D ($\mu\text{g}/\text{Kg}\cdot\text{día}$)
- Ratio Ca/P (mg/mg)

Método: Registro dietético de tres días.

Esta información se obtuvo mediante registros dietéticos de 3 días que habían sido diseñados específicamente para facilitar una descripción detallada del tipo de alimento consumido, de las cantidades de los ingredientes, de la preparación y del horario de cada una de las tomas que habían realizado los participantes del estudio.

Los diarios fueron completados por los padres/cuidadores y finalmente habían sido revisados por los nutricionistas-dietistas entrenados.

Seguidamente, y a partir del diario dietético se realizó el cálculo de nutrientes ingeridos. Para ello se utilizó un programa informático específicamente desarrollado para este estudio.

Los datos nutricionales de los alimentos fueron introducidos de la tabla de composición alemana BLS II.2 (The German FoodCode and Nutrient Data Base. BgVV, Berlin 1999)¹⁴³ y posteriormente se añadieron 2400 alimentos más que procedían de los otros países participantes. Para la introducción de los nutrientes de estos últimos alimentos se utilizaron las tablas de composición de alimentos locales¹⁴⁴⁻¹⁴⁸ y la información nutricional aportada por los laboratorios de alimentación infantil.

No valoramos la ingesta dietética de los niños alimentados con leche materna, ya que no calculamos el volumen de leche ingerido ni tampoco analizamos la composición de la leche extraída de las madres.

▪ *A LOS 7 AÑOS*

Variables medidas

- Ingesta de calcio (mg/día)

- Ingesta proteica (a través de excreción urinaria de urea)

Variable calculada

- Ingesta de calcio (mg/día·Kg peso)

Método: Cuestionario de frecuencia de consumo de calcio (FFQ-Ca)

El FFQ-Ca, específico para valorar la ingesta de calcio, se desarrolló a partir del FFQ semicuantitativo general del CHOP. De los 158 ítems iniciales que lo formaban, se escogieron los lácteos y derivados (19 ítems) y las bebidas (7 ítems) como representación de los alimentos con mayor contenido de calcio.

El grupo de lácteos y derivados lo formaban distintos tipos de leche, batidos, cacao, yogures, y quesos.

En el grupo de las bebidas, estaba formado por el agua (teniendo en cuenta su contenido de calcio, en mg), los zumos, y las bebidas.

A partir de la porción estándar de cada uno de los alimentos (que la podíamos encontrar tanto “en gramos o ml” como el equivalente a la medida estándar casera), se recogió información sobre la frecuencia de consumo;

- 1, 2 o 3 veces/día
- 1, 2, 3-4 o 5-6 veces/semana
- 1, 2-3 veces/ mes

Así como también, la porción habitual consumida;

- 1/2 de la porción estándar
- 1 porción estándar
- 1 i ½ porciones
- 2 porciones

El cuestionario era entregado a los padres en el momento de la visita. En el caso que no se pudieran rellenar en ese momento, los investigadores

los llamaban por teléfono posteriormente para poderlo completar. Todos los cuestionarios fueron revisados por nutricionistas-dietistas.

Para transformar los gramos de los alimentos consumidos a nutrientes, se utilizaron las tablas de composición de alimentos españolas^{144,145}.

Método: Ingesta proteica

Dado que a los 7 años no se realizaron registros dietéticos de 3 días, para aproximar la ingesta proteica de los participantes se decidió calcular el ratio Urea/Creatinina^{149,150}. Se descartó utilizar la urea para estimar la ingesta, ya que varios estudios han mostrado que este valor no es suficiente para estimación de ingesta de este nutriente¹⁵⁰.

4.2.3. ACTIVIDAD FÍSICA

▪ A LOS 7 AÑOS

El grado de actividad física de los participantes a los 7 años de edad, fue valorado mediante el cuestionario *Physical Activity Questionnaire for school children's* (PAQ-C)^{151,152}. Los investigadores facilitaban este cuestionario a las familias y los participantes lo rellenaban con la ayuda de sus padres/cuidadores.

El cuestionario PAQ-C es un cuestionario formado por 10 ítems que están relacionados con la actividad física y con los juegos activos realizados a lo largo de los 7 días previos a su cumplimentación. Este cuestionario, incluye el tipo de actividades realizadas durante el tiempo de ocio, la actividad física diaria y las prácticas habituales de deporte.

Los participantes podían responder del 1 (en el caso de no practicar la actividad nombrada) al 5 (muy activo/a en la actividad). El resultado se

calculó haciendo el promedio de las respuestas. Se siguió la siguiente clasificación:

1 (muy sedentario), 2 (sedentario), 3 (moderadamente activo), 4 (activo), y (5 muy activo).

El grado de actividad física se utilizó como factor de ajuste de la DMO.

4.2.4. DENSITOMETRÍA ÓSEA

▪ A LOS 7 AÑOS

Variables medidas

- Contenido mineral óseo entre la L1-L4 (g) (CMO L1-L4)
- Contenido mineral óseo total (g) (CMO total)
- Área mineral ósea total (cm²) (BMA total)
- Área mineral ósea lumbar (L1-L4) (BMA lumbar)
- Masa grasa (Kg)
- Masa libre de grasa (Kg)

Variables calculadas

- **Densidad mineral ósea de la zona lumbar entre L1 y L4 (g/cm²) (DMO L1-L4)**

$$\text{DMO L1-L4 (g/cm}^2\text{)} = \text{CMO L1-L4 (g)} / \text{Área L1-L4 (cm}^2\text{)}$$

- **Densidad mineral ósea total (g/cm²) (DMO Total)**

$$\text{DMO (g/cm}^2\text{)} = \text{CMO (g)} / \text{Área (cm}^2\text{)}$$

- **Densidad mineral ósea total aparente (g/cm³) (BMAD total)**

$$\text{BMAD del cuerpo total} = \text{CMO total} / (\text{BMA}^2 / \text{talla})$$

- **Densidad mineral ósea lumbar aparente (g/cm³) (BMAD lumbar L1-L4)**

BMAD lumbar= CMO lumbar / BMA lumbar^{1.5}

- **Índice de masa grasa (Kg/m²)**

IMG (Kg/m²)= masa grasa total (kg) / altura² (m)

- **Índice de masa magra (Kg/m²)**

IMM (Kg/m²)= masa libre de grasa (Kg) / altura² (m)

Los z-score de la DMO L1-L4, DMO Total, IMG, IMM se calcularon de acuerdo a las referencias del sistema¹⁵³.

Los z-score de la BMAD total y BMAD lumbar, se calcularon de acuerdo a nuestra población.

Método: Densitometría ósea

La densitometría ósea (DXA) es el Gold Standard para determinar la DMO. Esta es una técnica no invasiva, de baja radiación, bajo coste, accesible y fácil de usar que proporciona una cuantificación exacta y precisa de la DMO y del CMO.

Además, el DXA puede evaluar la composición corporal (masa grasa y masa magra) total y segmental (tronco y extremidades por separado) de adultos y de pacientes de edades pediátricas.

En los adultos es una técnica muy útil para la evaluación y gestión de enfermedades de los huesos y puede aportarnos datos fiables para la investigación. En los niños, en cambio, medir la DMO es complicado ya que el esqueleto está sujeto a continuos cambios por su crecimiento, lo que conlleva a que no haya un punto de referencia preciso.

El cálculo que realiza el DXA, es un cálculo donde se valora el CMO respecto a un área dando una aproximación que puede subestimar la densidad real, especialmente en huesos pequeños.

Se recomienda valorar la densidad “real” de la DMO en niños, calculando la densidad mineral ósea aparente (BMAD g/cm^3)^{154,155}.

La BMAD es una estimación volumétrica de la DMO que sufre menos variaciones en relación a la medida del esqueleto; se usa como corrección de la DMO y asume que las vértebras del cuerpo son un cilindro¹⁵⁶.

Los lugares más recomendados para realizar las medidas con el DXA en edad pediátrica son: la columna vertebral y el cuerpo entero ya que se consideran los sitios más exactos y más reproducibles para la medición de CMO y la área de la DMO¹⁵⁷.

▪ *Procedimiento de medida*

Para la realización del DXA se utilizó el modelo Lunar Prodigy Primo, de 0.4 mGy de radiación para el cuerpo entero y de 0.9 mGy para la columna. Los rayos X fueron de 76-Kev y la precisión de error fue del 1%.

El cálculo de las puntuaciones z de la DMO por edad y género se realizó mediante el software integrado EnCore 2005 (GE Lunar Corporation, Madison, WI, USA), que utilizó como valores de referencia, los obtenidos por el mismo fabricante en un estudio realizado con 925 varones normales y 1135 mujeres con edades comprendidas entre 5-19 años¹⁵³.

Para evitar errores, todas las mediciones fueron llevadas a cabo por un único técnico de *l'Institut de Diagnòstic per la Imatge* de l'Hospital Universitari Joan XXIII de Tarragona, siguiendo el protocolo que se detalla a continuación:

- Niño/a en ropa interior.
- No debía llevar puesto ningún tipo de objeto metálico (así como joyas, relojes,..)
- Posición en la mesa de valoración en decúbito supino lo más recto/a posible, con los pies juntos y las palmas de las manos hacia abajo.
- Los participantes debían estar muy quietos durante la exploración (aproximadamente 5 minutos era el tiempo estimado para la radiografía del cuerpo total y 35 segundos la de la columna lumbar).
- Adquiridas las dos imágenes, los técnicos ejecutaban el software para concretar las mediciones obteniendo los valores finales.

4.2.5. ANÁLISIS BIOQUÍMICOS EN SANGRE Y ORINA

- *A LOS 3 Y 6 MESES*

Parámetros séricos medidos

- Creatinina (mg/dL)
- Urea (mg/dL)

Parámetros urinarios medidos

- Calcio (mg/dL)
- Creatinina (mg/dL)
- Osmolaridad (mmol/L)

Parámetros urinarios calculados

- Cociente Ca/Cr (mg/mg).- Para valorar el nivel de calciuria.

A los 3 y 6 meses de edad, se recogió una muestra de orina mediante una bolsa de recolección infantil, que se preservó a 4-8°C. Posteriormente, se procedió a su análisis y se midió el calcio urinario (mg/dL) con reactivos de Beckman-Coulter (Fullerton, CA, USA) en un analizador automático SynchronLxi® (Beckman-Coulter). La creatinina urinaria (mg/dL) se valoró mediante reacción cinética de Jaffé y la osmolaridad (mOsm/L) utilizando el método USC con un ARKAY OsmoStation OM-6050 (A. MenariniDiagnostics, Valkenswaard, TheNetherlands).

Con los valores de calcio y creatinina obtenidos, se calculó el Cociente Ca/Cr (mg/mg). Se clasificaron como hipercalcémicos todos los niños que mostraron tener los valores de Ca/Cr urinarios superiores al p95 para su edad (es decir, superior a 0.80 mg/mg según la definición de Stapleton y Santos^{158,159}).

Parámetros funcionales plasmáticos calculados

A los 6 meses se extrajo una muestra de sangre de los participantes. Para el análisis de creatinina sérica, se utilizó un ensayo colorimétrico cinético. Además, se estimó la tasa de filtración glomerular (FGe) mediante la ecuación de Schwartz¹⁶⁰

$$(FGe [ml / min \cdot 1.73m^2]) = (0.45 \times longitud [cm]) / Creatinina\ sérica [mg / dl].$$

▪ A LOS 7 AÑOS

Parámetros urinarios medidos

- Urea (mmol/L)
- Creatinina (mmol/L)
- Osmolaridad (mOsm/Kg)
- Albúmina, c (mg/L)

- Calcio (mmol/L)
- Leucocitos (mediante tira reactiva)
- Sangre (mediante tira reactiva)

Parámetros urinarios calculados

- Cociente Ca/Cr¹⁶¹
- Cociente Urea/Creatinina
- Cociente Albumina/Creatinina

Método: Protocolo estandarizado para el diagnóstico de hipercalciuria.

Dadas las dificultades que comporta la recogida de orina de 24 horas en edades pediátricas; valoramos la excreción de calcio siguiendo el criterio reportado por Nordin y colaboradores⁵⁹ como medida alternativa. Este método ha sido seguido y utilizado por otros autores⁶⁰.

Los investigadores solicitamos a las familias colaboradoras dos muestras de orina aisladas, separadas por una semana de tiempo, acatando el siguiente proceso estandarizado:

▪ *Procedimiento estandarizado de recogida de orina*

- Las orinas fueron recogidas por los participantes en sus casas, preferentemente un día festivo (domingo).
- Se recogía la segunda muestra de orina de la mañana, después de haber consumido un lácteo estandarizado, que era el equivalente a los mg de calcio que contenían 200 cc de leche de vaca.
- Una vez obtenida la muestra, los padres la guardaban en el frigorífico (4-8°C) y al día siguiente la llevaban al Hospital Universitari Sant Joan de Reus o al Hospital Universitari Joan XXIII de Tarragona, donde era analizada.

▪ *Procedimiento estandarizado de análisis de orina*

La urea (mg/dl) fue medida con reactivos de Beckman-Coulter (Fullerton, CA, USA) en un analizador automático SynchronLxi® (Beckman-Coulter); la creatinina (mg/dl) fue analizada mediante reacción cinética de Jaffé y la osmolaridad (mOsm/L) fue analizada utilizando el método USC con un ARKAY OsmoStation OM-6050 (A. MenariniDiagnostics, Valkenswaard, TheNetherlands).

Finalmente, para analizar el calcio en orina (mg/dl) fue importante la acidificación de la muestra antes de su análisis. Al contrario esta sustancia precipitaría en el fondo del recipiente provocando una estimación de la concentración errónea e infravalorada¹⁶². Para ello, se añadieron 200 microlitros de HCl6N a la muestra para conseguir un pH igual o inferior a 2; transcurrida una hora, la muestra era analizada con normalidad.

Diagnóstico de hipercalciuria

Siguiendo el criterio de Stapleton y colaboradores¹⁶¹, diagnosticamos de hipercalciúricos a los niños que presentaron valores superiores a 0.21 mg/mg del ratio Ca/Cr en las dos muestras de orina aisladas. Este valor corresponde al percentil 95 para una población caucásica de 7 y 14 años según So y colaboradores⁵⁵.

En el caso que los resultados de que el resultado de diagnóstico fuera discordante entre las dos muestras, se recogió una tercera muestra de orina para determinar el diagnóstico final.

Los niños que fueron diagnosticados de hipercalciúricos fueron derivados al nefrólogo pediátrico del Hospital Universitari de Sant Joan de Reus.

Criterios de exclusión

Se determinaron los leucocitos y la presencia de sangre en orina, con una tira reactiva. Los sujetos que presentaron infecciones urinarias o hematuria en sus muestras de orina fueron excluidos del estudio.

4.2.6. ECOGRAFÍA RENAL

▪ *A LOS 6 MESES*

Se realizó una ecografía para valorar el volumen renal total. Se tomaron las medidas renales de los participantes a los 6 meses de edad para determinar el volumen total renal. Para ello se utilizó una sonda lineal (5-7.5 MHz) de 0.1 mm de precisión por abordaje posterior o lateral en posición prono, y así poder registrar la medida más larga posible del riñón^{75,163}.

Medidas (en ambos riñones)

- Longitud (cm)
- Ancho (cm)
- Máxima profundidad de la sección longitudinal (D1) (cm)
- Máxima profundidad en la sección transversal (perpendicular al hilio (D2) (cm))

Parámetros calculados

- Volumen renal derecho (cm³)
- Volumen renal izquierdo (cm³)
- Volumen renal total (cm³) (volumen)
- Volumen renal total/longitud (volumen/cm) (cm³/cm)

El volumen renal se calculó mediante la ecuación de un elipsoide^{75,164}:

$$Volumen\ renal\ (cm^3) = longitud \times ancho \times 0.5(D1 + D2) \times 0.523,$$

donde D1 es la máxima profundidad en la sección longitudinal y D2 es la máxima profundidad en la sección transversal.

El volumen renal total (cm³) se calculó con la suma del volumen de los riñones izquierdo y derecho. Adicionalmente, se calculó el volumen renal relativo en función de la longitud del niño (cm³/cm).

4.3. ASPECTOS ÉTICOS

Este estudio se realizó de acuerdo a la declaración de Helsinki (II).

El estudio fue aprobado por los Comités Éticos de Investigación Clínica del Hospital Universitari Joan de Reus y del Hospital Universitari Joan XXIII de Tarragona.

Todos los participantes fueron informados de las características del estudio, la metodología utilizada así como los posibles riesgos o beneficios que comportaba su participación tanto en el momento de reclutamiento como durante el seguimiento del estudio. En todos los casos se obtuvo el consentimiento informado paterno.

4.4. ESTADÍSTICA

Los resultados descriptivos se expresan como media (\pm DE) o mediana (rango intercuartil), después de valorar la distribución de las variables analizadas. Se utilizó T-Test o U de Mann Whitney, según distribución de los resultados, para la comparación de medias de las variables

cuantitativas entre los grupos de calciuria. Cuando se incluyó en el análisis el grupo de lactancia materna se utilizó el test de ANOVA y las comparaciones Post hoc de Bonferroni para diferenciar entre grupos. Para probar la asociación lineal entre las variables continuas, se usó el test de Pearson o Spearman después de comprobar la distribución de los resultados. El test Chi-cuadrado se utilizó para valorar si existían diferencias en la distribución de las variables cualitativas entre grupos.

Para valorar el efecto de la hipercalciuria sobre la densitometría ósea a los 7 años de edad, se realizaron regresiones lineales múltiples en las que se ajustó el efecto de la hipercalciuria por la antropometría, ingesta de calcio y actividad física. También se realizaron modelos lineales de regresión para evaluar el efecto del contenido proteico de la fórmula infantil sobre la calciuria en lactantes de 3 y 6 meses de edad. El efecto de la fórmula con baja proteína (BP) o alta proteína (AP), así como la ingesta total de proteína se analizaron ajustando el modelo por país (como variables dummy) y también ajustando por otros factores relevantes de la ingesta (i.e. ingesta energética, sodio, ratio Calcio/fósforo) y/o renales (i.e. volumen renal, filtrado glomerular estimado y ratio urea/creatinina en suero).

La significación estadística fue aceptada al nivel $p < 0.05$.

La gestión de datos y el análisis estadístico se realizó con el paquete informático SPSS 20.0 (IBM Corp. Released 2011. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp).

5. RESULTADOS

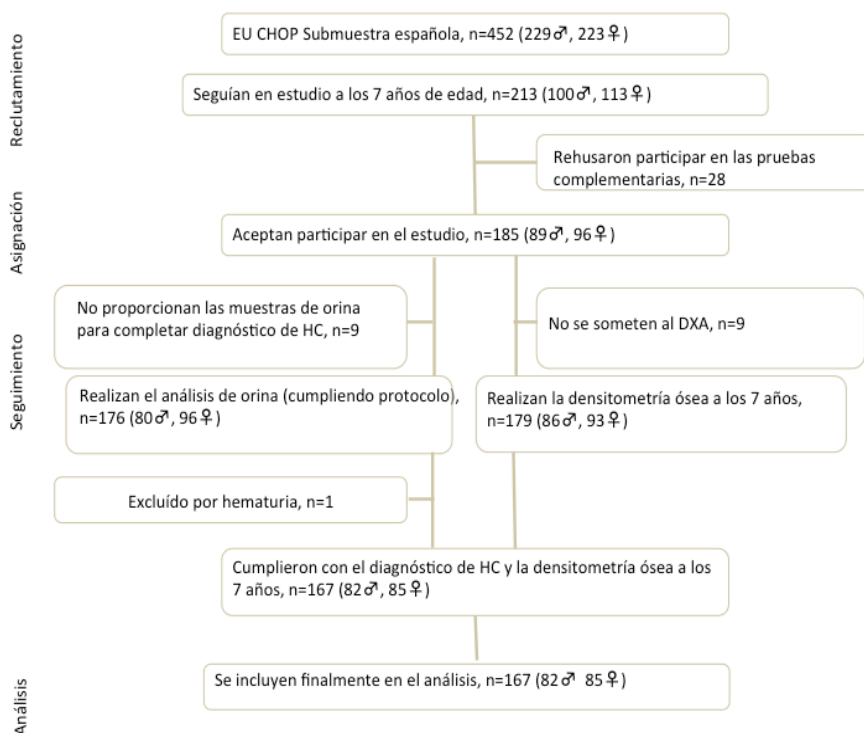
5. RESULTADOS

5.1. OBJETIVO 1. VALORACIÓN DE LA EXCRECIÓN DE CALCIO Y DE LA MASA MINERAL ÓSEA EN NIÑOS A LOS 7 AÑOS DE EDAD.

MUESTRA

La Figura 6 muestra el seguimiento de los participantes de la submuestra española EU CHOP a los 7 años.

Figura 6. Asignación y seguimiento de la submuestra española EU CHOP (7 años)



EU CHOP: European Childhood Obesity Project; HC: hipercalciuria; DXA: Densitometría Dual de rayos X .

Durante el periodo de Octubre 2009 a Marzo de 2011, propusimos valorar la calciuria a los 213 participantes de la submuestra española del CHOP que seguían en estudio a los 7 años. Ciento ochenta y cinco aceptaron participar, y 176 completaron correctamente el protocolo (llevando a cada centro, las muestras de orina necesarias para valorar si el participante presentaba hipercalciuria o no) y fueron incluidos en el estudio.

Una niña con antecedentes de nefropatía y microhematuria, fue excluida del estudio, quedando finalmente incluidos en el análisis 175 participantes (82% de la submuestra española) de los cuales 167 realizaron correctamente el DXA (Figura 6).

5.1.1 EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA INTERVENCIÓN NUTRICIONAL DEL PRIMER AÑO DE VIDA.

En primer lugar, examinamos si la intervención nutricional que se había llevado a cabo durante el primer año de vida, podría haber influido en los resultados analizados a los 7 años. No hubo diferencias significativas en los valores de calciuria ni en los de DMO en relación con el tipo de alimentación llevado a cabo durante el primer año de vida (Tabla 7). No se hallaron diferencias significativas en la prevalencia de HC a los 7 años entre los diferentes grupos de alimentación (AP: 20.6%, BP: 11.5% y LM: 21.7%, $p=0.283$). Por tanto consideramos a todos los participantes como miembros de un estudio de cohorte homogéneo independientemente de la intervención nutricional precoz realizada en el ensayo, y no se analizaron los resultados por los subgrupos de intervención.

Tabla 7. Intervención nutricional del primer año en relación a los resultados a los 7 años.

	AP (n=66)	BP (n=61)	LM (n=46)	Valor p
Ca/Cr (mg/mg)	0.14 ± 0.11	0.12 ± 0.08	0.14 ± 0.08	0.226
DMO Total (g/cm ²)	0.84 ± 0.04	0.84 ± 0.04	0.84 ± 0.05	0.696
DMO Total z-score	0.41 ± 0.74	0.37 ± 0.81	0.46 ± 1.07	0.802
DMO Lumbar (g/cm ²)	0.68 ± 0.11	0.71 ± 0.07	0.71 ± 0.09	0.145
DMO Lumbar z-score	0.34 ± 0.78	0.53 ± 0.81	0.50 ± 1.01	0.443
BMAD Lumbar(g/cm ³)	0.13 ± 0.02	0.14 ± 0.02	0.14 ± 0.02	0.532

AP: Fórmula alta en proteína; BP: Fórmula baja en proteína; LM: Lactancia materna. Valor p para el test de ANOVA. Comparaciones Post Hoc de Bonferroni no significativas.

5.1.2. PREVALENCIA DE HC A LOS 7 AÑOS. CARACTERÍSTICAS BASALES Y ANTROPOMÉTRICAS DE NUESTRA POBLACIÓN EN FUNCIÓN DEL DIAGNÓSTICO DE HC.

Treinta y un niños (17.7%) fueron diagnosticados de HC por presentar valores de Ca/Cr superiores a 0.21 en dos muestras de orina tomadas según el protocolo estandarizado. La prevalencia fue similar en ambos sexos (18.6% niños vs. 16.9% niñas; p=0.762).

En 33 de los 175 niños estudiados, fue necesario recoger una tercera muestra de orina para poder establecer el diagnóstico final de hipercalciuria, por presentar valores discordantes en las dos primeras muestras.

Se comprobaron los antecedentes familiares de litiasis de los participantes sin que se observaran diferencias significativas en función del grupo de

diagnóstico. El 48.39% de los niños con HC y el 36.8% del grupo control, tenían antecedentes positivos de cólico nefrítico y/o litiasis ($p=0.375$).

En referencia a las variables antropométricas, no se observaron diferencias significativas entre los dos grupos de estudio (Tabla 8). Tampoco se encontró ningún tipo de relación entre el peso, talla e IMC con la calciuria a los 7 años de edad (datos no mostrados en la tabla).

Tabla 8. Características basales y antropométricas de los participantes según el grupo de diagnóstico.

	CONTROL (n=144)	HC (n=31)	Valor p
Género (H/M)	70/74	16/15	0.762
Historia familiar de litiasis (n/%)	53/36.8%	15/48.39%	0.375
Edad (años)	7.02 ± 0.13	7.06 ± 0.06	0.132
Peso (kg)	25.58 ± 4.67	25.52 ± 4.60	0.947
Peso (z-score)	0.66 ± 1.12	0.65 ± 1.10	0.966
Talla (cm)	122.71 ± 4.86	123.32 ± 4.44	0.522
Talla (z-score)	0.26 ± 0.90	0.35 ± 0.82	0.614
IMC (kg/m ²)	16.90 ± 2.3	16.72 ± 2.45	0.692
IMC (z-score)	0.69 ± 1.17	0.60 ± 0.27	0.699
FMI (Kg/m ²)	3.79 ± 1.96	3.52 ± 2.01	0.507
FMI (z-score)	4.76 ± 1.77	4.52 ± 1.83	0.502

HC: Hipercalciuria idiopática. Valor p para la prueba de Chi² para las variables cualitativas y la prueba t de Student para las cuantitativas.

5.1.3. PARAMETROS BIOQUÍMICOS URINARIOS EN FUNCIÓN DEL DIAGNÓSTICO DE HC

La excreción urinaria de calcio/ creatinina fue de 0.27 ± 0.07 en niños diagnosticados con HC y de 0.10 ± 0.05 mg/mg en los controles ($p<0.001$) (Tabla 9).

Dado que a los 7 años de edad no se disponía de registros dietéticos de 3 días, se aproximó la ingesta proteica mediante el ratio Urea/Cr (mg/mg) sin que se observaran diferencias significativas entre los dos grupos de diagnóstico (Tabla 9).

La relación de la excreción urinaria de albúmina con la creatinina (Alb/Cr (mg/mg) y la Osmolaridad mostraron tener valores similares entre controles e hipercalcémicos (Tabla 9).

Todos los niños (hipercalcémicos y controles) tenían un balance de ácido base y de calcio en sangre normal en los análisis que se les habían realizado previamente (datos no mostrados).

El ratio urea/creatinina se asoció con el ratio Ca/Cr ($r=0.270$, $p<0.001$) no encontrándose una variación significativa entre los dos grupos (29.7 ± 7.0 vs. 28.5 ± 12.9 mg/mg para HC y controles respectivamente ($p=0.081$) (Tabla 9).

Tabla 9. Parámetros bioquímicos urinarios según diagnóstico de hipercalciuria idiopática.

	CONTROL (n=139)	HC (n=29)	Valor p
Relación Ca/Cr (mg/mg)	0.10 ± 0.05	0.27 ± 0.07	<0.001
Relación Urea/Cr (mg/mg)	28.47± 12.90	29.66 ± 7.01	0.081
Relación Alb/Cr (mg/mg)	11.74 ± 14.33	14.29±12.72	0.090
Osmolaridad urinaria (mosm/Kg)	858.4 ± 186.9	809.2± 242.7	0.403

HC: Hipercalciuria idiopática. T-test or Mann-Whitney según corresponda

5.1.4. PONDERACION DE FACTORES DIETETICOS QUE PUEDEN INFLUIR LA CALCIURIA

- *INGESTA DE CALCIO EN LA MUESTRA POR GRUPOS DE DIAGNÓSTICO DE HC.*

La ingesta media de calcio en la muestra total fue de 854±399 mg/día.

No encontramos ningún tipo de correlación significativa entre la ingesta de calcio (mg/Kg·día) y la calciuria ($r=-0.080$, $p=0.310$). Tampoco se mostraron diferencias significativas entre los normocalicúricos y los HC en cuanto a la ingesta total de calcio (mg/día·Kg), el calcio procedente de la leche (mg/día·Kg), o el de los productos lácteos (mg/día·Kg) (Tabla 10). Así pues, la ingesta total de calcio y su origen no influyó en los niveles de calciuria.

Observamos que el 49.3% de los participantes del grupo control y el 62.1% de los niños diagnosticados con HC, tenían unos valores de ingesta de calcio inferiores a los recomendados, que eran de 700 mg/día (según los

EAR, requerimientos medios estimados en el informe conjunto de la Food and Agriculture Organization de Naciones Unidas y la Organización Mundial de la Salud⁶⁴ Estos porcentajes de deficiencia en la ingesta de calcio eran similares en los dos grupos de estudio ($p=0.210$).

Tabla 10. Ingesta de calcio según el diagnóstico de hipercalcemia idiopática.

INGESTA DE CALCIO	CONTROL (n=139)	HC (n=29)	Valor p
Calcio total (mg/día)	866.3 ± 385.7	797.8 ± 456.2	0.179
Calcio total (mg/día·kg)	33.3 ± 16.9	29.8 ± 17.9	0.327
Calcio procedente de la leche (mg/día·kg)	15.2 ± 9.0	12.9 ± 8.8	0.248
Calcio procedente de productos lácteos (mg/día·kg)	16.3 ± 11.3	14.6 ± 9.5	0.422
Niños por debajo las recomendaciones de calcio (n(%))	67 (49.3%)	18(62.1%)	0.210

HC.- Hipercalcemia idiopática. Valor p del test T de Student o U de Mann-Whitney según corresponda

Los niños con HC tenían ingestas inferiores de calcio total y todas sus formas dietéticas, pero sin alcanzar significación estadística. En la tabla 11 mostramos la distribución de la muestra según cuartiles de ingesta de calcio. Aunque parece que en el grupo de HC la muestra se encontraba más desplazada hacia el 1er y 2º cuartil, las diferencias en la distribución no eran significativas ($p=0.386$).

Tabla 11. Distribución en cuartiles de la ingesta de calcio según diagnóstico de hipercalcemia idiopática.

	CONTROL (n=139)	HC (n=29)	Valor p
1er cuartil (%)	33.1	41.4	0.386
2º cuartil (%)	12.3	20.7	
3er cuartil (%)	27.7	17.2	
4º cuartil (%)	26.9	20.7	

HC.- Hipercalcemia idiopática. Prueba de Chi²

▪ *VOLUMEN DE INGESTA DE BEBIDAS EN LA MUESTRA POR GRUPOS DE DIAGNÓSTICO DE HC*

Los grupos de participantes clasificados como grupo control y grupo HC, según su diagnóstico final, mostraron tener una ingesta del volumen diario de agua (ml/día·Kg), zumos de frutas (ml/día·Kg), bebidas carbonatas (ml/día·Kg), isotónicas (ml/día·Kg) y total (ml/día·Kg) similar entre ellos (Tabla 12).

Tabla 12. Volumen de ingesta según el diagnóstico de hipercalciuria idiopática.

VOLUMEN DE INGESTA	CONTROL (n=139)	HC (n=29)	Valor p
Total de agua (ml/día·Kg)	39.1 ± 22.7	39.11 ± 27.54	0.998
Zumo de fruta (ml/día·Kg)	3.91 ± 4.63	3.9 ± 6.96	0.405
Bebidas carbonatadas (ml/día·Kg)	0.76 ± 1.70	0.88 ± 1.41	0.540
Bebidas isotónicas (ml/día·Kg)	0.33 ± 1.36	0.44 ± 1.33	0.312
Total de bebidas (ml/día·Kg)	44.73 ± 23.08	44.49 ± 32.11	0.962

HC.- Hipercalciuria idiopática, Valor p del test T de Student o U de Mann-Whitney según corresponda

5.1.5 PONDERACIÓN DE FACTORES QUE PUEDEN INFLUIR SOBRE LA DMO

- *EFFECTO DE LA HC EN LA DENSITOMETRÍA ÓSEA.*

Los datos de la densitometría ósea realizada a los 7 años de edad se muestran en la Tabla 13.

Los niños con HC presentaron una DMO total inferior que los controles, esta diferencia era casi significativa ($p=0.055$) y alcanzó la significación estadística al ajustar la medida como z-score ($p=0.040$). No se encontró ninguna otra diferencia significativa entre hipercalciúricos y controles para ninguna de las otras variables de densitometría ósea estudiadas (Tabla 13).

Siete de los participantes del grupo de HC (22.6%) y dieciséis en grupo control (11.9%) mostraron una DMO (z-score) total inferior a -1

(categorizados como osteopénicos”). El riesgo relativo de osteopenia fue de 1.91 (95% CI: 0.86, 4.23, p=0.113) para el grupo de HC.

Tabla 13. Parámetros de densitometría en columna vertebral y cuerpo total para cada uno de los grupos de diagnóstico

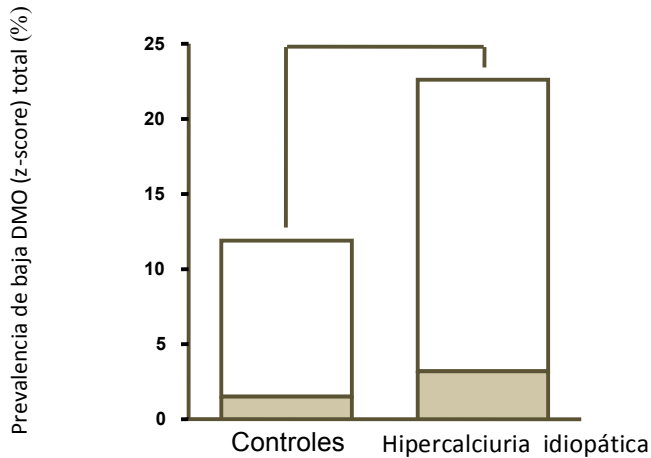
	CONTROL (n=135)	HC (n=31)	Valor p
<i>Columna Lumbar (L1-L4)</i>			
CMO (g)	18.56 ± 3.10	18.85 ± 3.01	0.634
Área del Hueso (cm ²)	26.4 ± 2.6	27.2 ± 3.5	0.144
DMO (g/cm ²)	0.70 ± 0.07	0.69 ± 0.08	0.587
DMO z-score	0.02 ± 1.06	-0.01 ± 0.84	0.900
BMAD (g/cm ³)	0.13 ± 0.02	0.13 ± 0.02	0.153
BMAD z-score	0.02 ± 0.98	-0.02 ± 0.96	0.158
<i>Cuerpo total</i>			
CMO (g)	875.0 ± 129.6	857.1 ± 99.6	0.472
Área del Hueso (cm ²)	1036.4 ± 116.0	1034.0 ± 103.7	0.915
DMO (g/cm ²)	0.84 ± 0.04	0.83 ± 0.04	0.055
DMO z-score	0.09 ± 0.99	-0.31 ± 0.88	0.040
BMAD (g/cm ³)	0.10 ± 0.06	0.10 ± 0.08	0.228
BMAD z-score	0.02 ± 0.91	-0.18 ± 1.27	0.407

HC.- Hipercalcemia idiopática. CMO.- Contenido mineral ósea; DMO.- Densidad Mineral Ósea. BMAD.- Densidad Mineral Ósea Aparente. Valor p del test T de Student o U de Mann-Whitney según corresponda.

De todos los niños con “osteopenia”, tres (uno del grupo de HC y dos del grupo de control) mostraron tener una DMO total z-score por debajo de -2. Estos niños fueron categorizados como “densidad mineral baja por su edad cronológica”.

La prevalencia de niños con baja densidad mineral para su edad cronológica fue similar en los dos grupos de diagnóstico (3.2% en el grupo de niños con HC y de 1.5% en los controles), con un riesgo relativo de 2.27 (95% CI: 0.21, 24.19), $p=0.498$ (Figura 7).

Figura 7. Prevalencia de osteopenia (DMO total z-score <-1) (barras blancas) y Baja Densidad Mineral ósea para la edad cronológica (DMO total z-score <-2) (barras verdes) en controles y en niños diagnosticados de hipercalcemia idiopática.



5.1.6. EVALUACION DE LA INFLUENCIA SOBRE LA DMO DE OTROS FACTORES CONFUSORES.

- *ANTROPOMETRIA, INGESTA DIETETICA Y ACTIVIDAD FISICA.*

Los varones mostraron unas cifras más elevadas de CMO Total (890.9 ± 119.6 vs. 852.9 ± 126.9 , $p=0.048$), Área Mineral del Hueso Total (1055.8 ± 103.5 vs. 1017.3 ± 119.7 cm^2 , $p=0.029$) y Área Mineral del Hueso

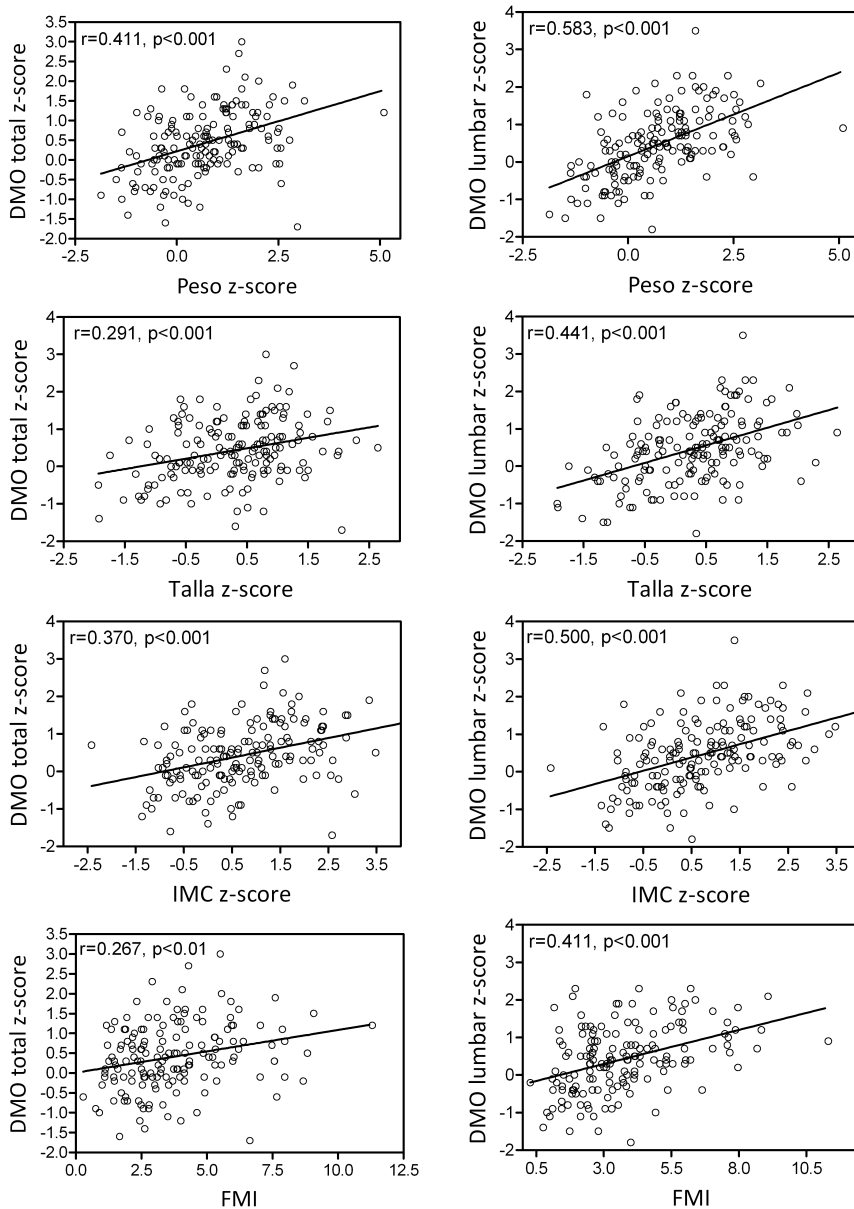
Lumbar (27.3 ± 2.8 vs. 26.0 ± 2.7 cm^2), $p=0.003$) con respecto a las niñas. La BMAD lumbar, en cambio fue inferior en los niños en comparación con las niñas (0.13 ± 0.02 vs. 0.14 ± 0.01 g/cm^3 respectivamente, $p=0.014$). Estas diferencias significativas desaparecieron cuando realizamos el análisis con medidas ajustadas como z-score.

La DMO total z-score y la DMO lumbar z-score se asociaron directamente con todas las variables antropométricas (Figura 8).

Con respecto a la ingesta, no se observó ningún tipo de asociación entre la DMO total z-score y la DMO lumbar z-score con la ingesta total de calcio ($\text{mg}/\text{día}\cdot\text{kg}$) ni con el ratio urea/creatinina (mg/mg) urinario (medida indirecta de ingesta proteica).

En cuanto a la actividad física, no se encontraron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo de HC (2.85 ± 0.48 vs. 2.70 ± 0.48 puntos respectivamente, $p=0.141$), pero sí pudimos mostrar una relación entre la actividad física y el CMO Total ($r=0.201$, $p=0.015$) y el BMAD lumbar z-score ($r=0.375$, $p<0.001$). Esta relación no se observó nunca con la DMO o con la DMO z-score.

Figure 8. Correlación entre variables antropométricas y densitometría ósea.



Los gráficos de la izquierda muestran la correlación entre la DMO (densidad mineral ósea) total con el peso z-score, talla z-score, IMC (índice de masa corporal) z-score y FMI (índice de masa grasa) z-score. A la derecha la DMO de la columna lumbar con las mismas variables antropométricas, anteriormente nombradas.

Para valorar el efecto de la HC sobre la DMO total z-score ajustando por las variables confusoras, se realizó un modelo de regresión lineal múltiple donde se observó que el peso z-score y el diagnóstico de HC modulaban la DMO total z-score de forma significativa; así, el hecho de tener hipercalcemia reducía 0.379 desviaciones estándar la DMO total (Tabla 14, modelo 1). Este efecto se mantuvo aún añadiendo otras variables confusoras como la actividad física y la ingesta de calcio (Tabla 14, modelo 2). El modelo con mayor bondad de ajuste fue el que incluyó únicamente la antropometría y el diagnóstico de HC, que predijeron hasta un 18.7% de la DMO total z-score (Tabla 14, modelo 1). El modelo que incluía además la actividad física y la ingesta de calcio (que no mostraron significación estadística) explicó tan solo un 16.4% de la variabilidad de la DMO total z-score.

Además, el efecto de ser diagnosticado de HC era tan grande como una modificación de 1 unidad de z-score de peso.

Tabla 14. Efecto de la Hipercalcemia idiopática en la DMO total z-score.

Variables con efecto sobre la DMO total (z-score)		n	B	95% IC (Mín, Máx)	p	R ²
Modelo 1	Peso z-score		0.361	(0.240 0.482)	<0.001	0.187
	Hipercalcemia idiopática(si vs. no)	164	-0.379	(-0.727 -0.032)	0.033	
Modelo 2	Peso z-score		0.240	(0.121 0.359)	<0.001	0.164
	Hipercalcemia idiopática(si vs. no)		-0.351	(-0.681 -0.021)	0.037	
	Nivel de actividad física (PAQ-C-score)	145	-0.248	(-0.023 0.519)	0.072	
	Ingesta de calcio (mg/ día x kg)		-0.004	(-0.012 0.004)	0.306	

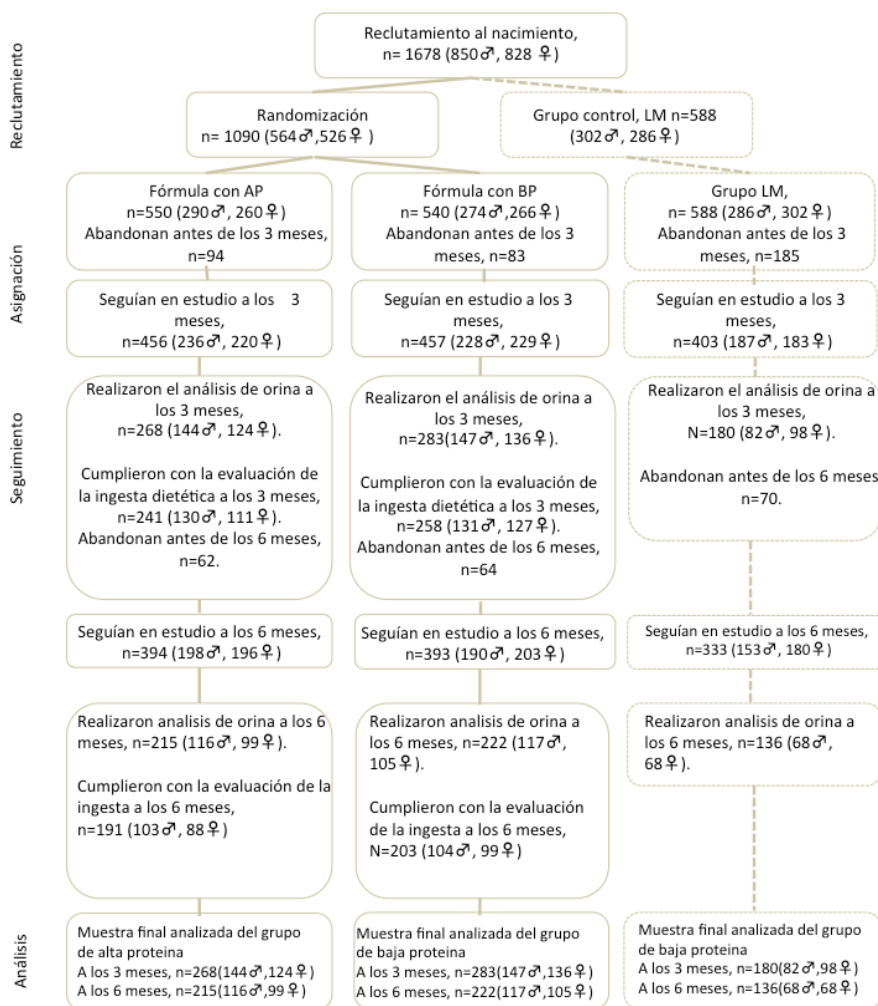
Modelos separados por línea. Modelo 1 ajustado por la antropometría; modelo 2 ajustado por la antropometría, actividad física e ingesta de calcio.

5.2. OBJETIVO 2. VALORACIÓN DE LA CALCIURIA EN LACTANTES SANOS: FACTORES MODULADORES.

MUESTRA

La Figura 9 resume los datos del reclutamiento, la asignación al azar del tipo de fórmula a consumir: alta proteína (AP) o baja proteína (BP) junto con los participantes alimentados con lactancia materna (LM) y el seguimiento de los participantes del estudio EU-CHOP hasta los 6 meses de edad.

Figura 9. Asignación y seguimiento de la muestra del EU CHOP (0-6 meses)



Un total de 1678 participantes sanos fueron reclutados durante las primeras 8 semanas de vida (mediana 14 días, IQR: 3-30 días) (850 niños, 828 niñas). Mil trescientos dieciséis y 1120 siguieron participando en el estudio a los 3 y 6 meses respectivamente. De todos estos participantes, se obtuvieron 731 muestras de orina a los 3 meses (373 niños, 234 niñas) y 573 a los 6 meses (369 niños, 272 niñas). El abandono y/o el no acatamiento del protocolo fue distribuido en partes iguales en los grupos de alimentación.

5.2.1. PARAMETROS ANTROPOMÉTRICOS A LOS 3 Y 6 MESES EN FUNCIÓN DEL TIPO DE ALIMENTACIÓN.

Los participantes de la muestra del grupo de AP y BP tuvieron características antropométricas similares; a excepción de la longitud y de la longitud (cm, z-score) que a los 3 meses era superior en los AP. Asimismo, el grupo alimentado con LM mostró tener diferencias antropométricas significativas tanto con el grupo alimentado con AP como con el grupo de BP a los 3 y 6 meses, tanto en los parámetros de peso como en longitud. A los 6 meses, las diferencias entre grupos de alimentación se hallaban en los parámetros de peso (peso, IMC, peso para la talla), siendo el AP el grupo con mayores valores para los indicadores ponderales y el LM el grupo con los valores más bajos; sin embargo, a los 6 meses, cualquier diferencia en talla desaparecía al ajustar como z-score para la edad y género (Tabla 15).

Tabla 15. Parámetros antropométricos basales, a los 3 y 6 meses de edad en función del tipo de alimentación.

	AP Media (DS) n=267	BP Media (DS) n=283	LM Media (DS) n=180
<i>Al nacimiento</i>			
Peso (Kg)	3.29 (0.35)	3.26 (0.33)	3.34 (0.37) ^a
Longitud (cm)	51.06 (2.81)	50.95 (2.81)	51.53 (2.86) ^a
IMC (Kg/cm ²)	12.67 (1.21)	12.60 (1.24)	12.58 (1.07)
Peso por edad z-score	-0.02 (0.74)	-0.08 (0.70)	0.09 (0.78) ^a
Longitud z-score	0.81 (1.48)	0.76 (1.50)	1.09 (1.49) ^{*,a}
Peso para longitud z-score	-0.99 (1.58)	-1.04 (1.62)	-1.20 (1.43)
IMC para la edad z-score	-0.64 (1.03)	-0.69 (1.06)	-0.69 (0.92)
<i>A los 3 meses</i>			
Peso (Kg)	6.03 (0.63)	5.93 (0.63)	5.98 (0.74)
Longitud (cm)	60.95 (2.15)	60.56 (1.99) [*]	61.13 (2.53) ^a
IMC (Kg/cm ²)	16.22 (1.36)	16.17 (1.41)	15.98 (1.56)
Peso por edad z-score	-0.16 (0.78)	-0.28 (0.80)	-0.21 (0.96)
Longitud z-score	0.14 (0.99)	-0.04 (0.93) [*]	0.26 (1.18) ^b
Peso para longitud z-score	-0.30 (1.00)	-0.30 (1.05)	-0.47 (1.14)
IMC para la edad z-score	-0.32 (0.90)	-0.36 (0.96)	-0.48 (1.06)
<i>A los 6 meses</i>			
Peso (Kg)	7.86 (0.86)	7.72 (0.88)	7.49 (0.90) ^{‡,a}
Longitud (cm)	67.76 (2.22)	67.56 (2.08)	67.20 (2.67) [*]
IMC (Kg/cm ²)	17.10 (1.51)	16.90 (1.56)	16.57 (1.54) ^{‡,a}
Peso por edad z-score	0.20 (0.91)	0.06 (0.94)	-0.19 (1.00) ^{‡,a}
Longitud z-score	0.47 (0.97)	0.38 (0.88)	0.23 (1.19)
Peso para longitud z-score	0.01 (1.02)	-0.11 (1.06)	-0.33 (1.07) [†]
IMC para la edad z-score	-0.08 (1.02)	-0.21 (1.06)	-0.44 (1.08) [†]

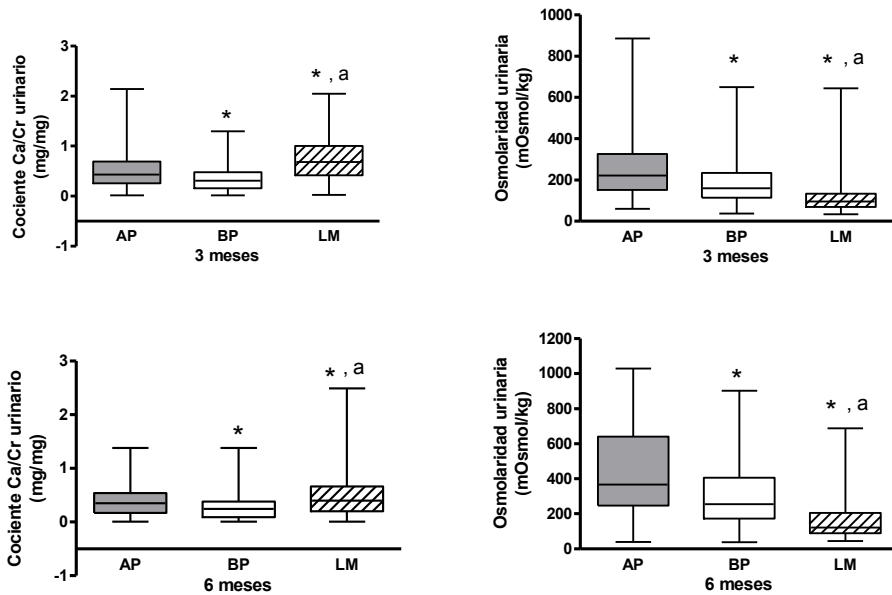
AP: Fórmula alta en proteína; BP: Fórmula baja en proteína; LM: Lactancia materna.

*p<0.05, †p<0.01, ‡p<0.001 vs. AP; ^ap<0.05, ^bp<0.01, ^cp<0.001 vs. BP

5.2.2. CALCIURIA EN FUNCIÓN DEL TIPO DE ALIMENTACIÓN A LOS 3 Y 6 MESES.

Los resultados de los análisis de orina mostraron que los niños que habían sido alimentados con leche materna tenían una relación Ca/Cr superior a los que habían sido alimentados con fórmula tanto a los 3 como a los 6 meses de edad. La Osmolaridad, en cambio, fue más baja en el grupo de LM (Figura 10).

Figura 10. Parámetros urinarios para cada tipo de alimentación (3 y 6 meses)



AP: Fórmula alta en proteína; BP: Fórmula baja en proteína; LM: Lactancia materna.

* $p < 0.001$ vs. AP; ^a $p < 0.001$ vs. BP.

Los niños alimentados con AP mostraron valores superiores de Ca/Cr y Osmolaridad comparado con los alimentados con BP (Figura 10). Además, estos lactantes alimentados con fórmula, mostraron tener una relación directa de Ca/Cr y Osmolaridad con la ingesta proteica a los 3 y 6 meses ($r=0.189$, $p<0.001$ y $r=0.265$, $p<0.001$ para Ca/Cr y Osmolaridad a los 3 meses; $r=0.167$ $p=0.001$ y $r=0.240$ $p<0,001$ para Ca/Cr y Osmolaridad a los 6 meses).

Los parámetros antropométricos al nacimiento (peso z-score, longitud z-score o IMC z-score) no se asociaron con la excreción urinaria de calcio (Ca/Cr) a los 3 ni 6 meses. A excepción de la osmolaridad de las muestras de orina de los 3 meses, la cual se correlacionó con la longitud z-score al nacimiento ($r=-0.132$, $p<0.001$). A los 6 meses también pudimos observar una asociación débil con la longitud z-score y IMC z-score del nacimiento.

Los parámetros de excreción urinaria a los 3 y 6 meses no se asociaron con la antropometría a esas mismas edades, excepto el Ca/Cr urinario a los 3 meses con el peso z-score ($r=0.076$, $p=0.041$) a esa misma edad. Cuando analizamos estas asociaciones por tipo de alimentación, tan sólo los participantes que fueron alimentados con la fórmula de AP mostraron correlaciones significativas entre el ratio Ca/Cr y el peso z-score a los 3 meses ($r=0.137$, $p=0.025$).

5.2.3. MODULADORES DE LA CALCIURIA EN FUNCIÓN DEL TIPO DE ALIMENTACIÓN

Son muchos los factores nutricionales que podrían modular la calciuria. Nosotros analizamos la ingesta energética (Kcal/Kg·día), proteica (g/Kg·día), de sodio (mg/Kg·día), calcio (mg/Kg·día), fósforo, vitamina D y la relación Ca/P a los 3 y 6 meses de cada fórmula infantil por ser las variables más relevantes (Tabla 16).

Como era de esperar, la ingesta proteica de la fórmula de AP fue mayor a lo largo del estudio. La ingesta energética, en cambio, fue muy similar entre los dos grupos de alimentación; tan sólo observamos un ligero incremento de Kcal/Kg·día en grupo de participantes que habían sido alimentados con la fórmula de menor contenido proteico a los 6 meses comparado con el grupo de AP (Tabla 16).

Sin embargo, esta diferencia no existió en el consumo de energía valorado como Kcal/día (sin ajustar por el peso del bebé) (704 ± 126 vs. 691 ± 126 Kcal/día, $p=0.305$; para BP y AP, respectivamente). Por lo tanto, esta diferencia fue debida al efecto que la mayor ingesta de proteica indujo sobre la antropometría. A los 3 meses, el grupo BP mostró tener una ingesta superior de calcio y sodio y una menor ingesta de fósforo comparado con los lactantes alimentados con fórmula AP. A los 6 meses la ingesta de calcio fue superior y el sodio inferior en el grupo BP (Tabla 16). No pudimos evaluar la ingesta de los participantes alimentados con lactancia materna.

Tabla 16. Ingesta calórica, proteica, de sodio, calcio, fósforo y vitamina D para cada grupo de alimentación (3 y 6 meses)

VARIABLES DE INGESTA	AP	BP	Valor p
	media (DS) n=241	media (DS) n=258	
3 meses			
Energía (Kcal/Kg·día)	98.7 (16.9)	98.9 (17.3)	0.850
Proteínas (g/Kg·día)	2.8 (0.5)	1.7 (0.3)	<0.001
Sodio (mg/Kg·día)	34.8 (6.3)	37.7 (6.7)	<0.001
Calcio (mg/Kg·día)	107.9 (18.3)	116.8 (20.7)	<0.001
Fósforo (mg/Kg·día)	96.3 (16.8)	90.3 (15.9)	<0.001
Vitamina D (µg/Kg·día)	1.4 (0.3)	1.4 (0.2)	0.967
Ratio Ca/P	1.1 (0.1)	1.3 (0.0)	<0.001
6 meses			
Energía (Kcal/Kg·día)	88.2 (17.0)	91.5 (16.1)	0.025
Proteínas (g/Kg·día)	3.1 (0.7)	1.9 (0.4)	<0.001
Sodio (mg/Kg·día)	43.5 (14.6)	39.6 (10.0)	0.002
Calcio (mg/Kg·día)	102.6 (26.6)	107.5 (25.6)	0.048
Fósforo (mg/Kg·día)	84.4 (19.6)	82.9 (18.2)	0.392
Vitamina D (µg/Kg·día)	1.3 (0.4)	1.4 (0.3)	0.003
Ratio Ca/P	1.2 (0.1)	1.3 (0.1)	<0.001

AP: Fórmula alta en proteína; BP: Fórmula baja en proteína. * p para T de Student

Otros moduladores que podrían influir la calciuria son el volumen y la función renal¹⁶⁵.

Tal y como nuestro grupo publicó anteriormente⁷⁵, los participantes que habían sido alimentados con la fórmula de mayor contenido proteico tenían un volumen renal más grande en comparación con los que habían consumido la fórmula de menor contenido proteico y a los alimentados con leche materna (Tabla 17). Estas diferencias siguieron siendo significativas cuando el volumen renal fue expresado en relación a la altura de los participantes (cc/cm).

Paralelamente, también observamos que los niños alimentados con la fórmula de alto contenido proteico, presentaban la urea en sangre y la relación Urea/Creatinina (indicadores de la carga renal) significativamente más elevados comparado con los alimentados con BP y LM (Tabla 17).

Además, la relación Ca/Cr a los 6 meses de edad se asoció directamente con el volumen total renal, el volumen renal ajustado por talla y con el FGe ($r=0.088$, $p=0.044$; $r=0.094$, $p=0.032$ y $r=0.116$, $p=0.008$ respectivamente).

Tabla 17. Variables renales según el tipo de alimentación.

VARIABLES RENALES	AP	BP	LM
	Mediana (IQR) n=205	Mediana (IQR) n=207	Mediana (IQR) n=122
FGe (ml/min per 1.7m ²)	89.6 (66.7, 104.3)	86.4 (63.3, 102.8)	95.6 (74.6, 103.5)
Volumen renal total (cc)	43.0 (37.0, 49.0)	38.7 (33.4, 45.6) [‡]	38.6 (32.4, 43.8) [‡]
Volumen renal/talla corporal (cc/cm)	0.63 (0.55, 0.72)	0.58 (0.50, 0.66) [‡]	0.57 (0.49, 0.66) [‡]
Urea en sangre (mg/dl)	29.0 (19.0, 36.0)	17.0 (13.0, 21.0) [‡]	10.0 (6.0, 13.0) ^{‡,b}
Creatinina en sangre (mg/dl)	0.40 (0.30, 0.45)	0.40 (0.30, 0.49)	0.33 (0.30, 0.40) ^{*,a}
Urea/Creatinina en sangre (mg/mg)	76.1 (47.5, 110.0)	44.9 (30.2, 60.4) [‡]	27.5 (20.0, 40.0) ^{‡,b}

AP: Fórmula alta en proteína; BP: Fórmula baja en proteína; LM: Lactancia materna; FGe.- Filtrado Glomerular estimado. * $p<0.05$, [†] $p<0.01$, [‡] $p<0.001$ vs. AP; ^a $p<0.05$, ^b $p<0.01$, ^c $p<0.001$ vs. BP.

Valoramos efecto del tipo de la alimentación (AP o BP) y de la ingesta proteica (como variable continua) sobre la calciuria a los 3 y 6 meses. Los modelos de regresión simple mostraron que el hecho de haber sido alimentado con una fórmula de AP, dio lugar a un incremento de la relación Ca/Cr de 0.129 unidades (IC 95%: 0.081, 0.177, $p < 0.001$) en comparación al grupo de fórmula BP a los 6 meses y de 0,209 (IC95%: 0.096, 0.323, $p < 0.001$) a los 3 meses (Tabla 18). Por cada gramo de proteína ingerido aumentaba la excreción urinaria de calcio (Ca/Cr) en 0.116 mg/mg i 0.061 mg/mg a los 3 y 6 meses respectivamente.

Los modelos de regresión lineal fueron ajustados por distintos factores renales (éstos solo a los 6 meses), tales como el volumen renal total, el FGe y la carga renal (medida como urea en suero/creatinina) y nutricionales (como la ingesta de sodio, fósforo y energía)(a los 3 y 6 meses). Los modelos ajustados por factores nutricionales revelaron que ninguno de los otros nutrientes considerados, además de las proteínas, afectaba la calciuria a los 3 y 6 meses. La ingesta de proteínas y el hecho de haber consumido una fórmula AP mantuvieron su efecto significativo sobre la relación Ca/Cr incluso en los modelos multivariantes ajustados por la ingesta de calcio, fósforo y sodio (Tabla 18).

A los 6 meses, aunque la ingesta de proteína, como variable continua, ajustada por factores nutricionales y renales perdía la significación estadística sobre la excreción urinaria de calcio, el efecto de la fórmula de AP sobre la excreción urinaria de Ca/Cr siguió mostrándose significativo, aún en modelos ajustados por otros factores renales y nutricionales.

Tabla 18. Efecto de la ingesta proteica y el tipo de alimentación sobre la calciuria a los 3 y 6 meses

Variables con efecto sobre la calciuria (Ca/Cr) (mg/mg)		B	95% IC (Mín, Máx)		p	R ²
<i>A los 3 meses</i>						
Modelos Simples	Ingesta proteica (g/Kg·día ⁻¹)	0.116	(0.023,	0.209)	0.015	1.3
	AP vs. BP	0.209	(0.096,	0.323)	<0.001	2.6
Modelos ajustados por factores nutricionales	Ingesta proteica (g/Kg·día ⁻¹)	0.197	(0.052,	0.335)	0.003	1.9
	AP vs. BP	0.254	(0.077,	0.431)	0.004	2.0
<i>A los 6 meses</i>						
Modelos Simples	Ingesta proteica (g/Kg·día ⁻¹)	0.061	(0.031,	0.092)	<0.001	3.4
	AP vs. BP	0.129	(0.081,	0.177)	<0.001	5.4
Modelos ajustados por factores nutricionales	Ingesta proteica (g/Kg·día ⁻¹)	0.071	(0.030,	0.112)	0.001	4.0
	AP vs. BP	0.118	(0.065,	0.172)	<0.001	5.8
Modelos ajustados por factores renales	Ingesta proteica (g/Kg·día ⁻¹)	0.047	(-0.005,	0.099)	0.078	8.0
	AP vs. BP	0.080	(0.014,	0.145)	0.017	8.1
Modelos ajustados por factores nutricionales y renales	Ingesta proteica (g/Kg·día ⁻¹)	0.036	(-0.017,	0.090)	0.185	8.6
	AP vs. BP	0.087	(0.016,	0.158)	0.016	9.7

Modelos separados por líneas. Todos los modelos ajustados por país. Factores nutricionales: Ca/P, Na, energía; factores renales: riñones, volumen de carga renal, FGe.

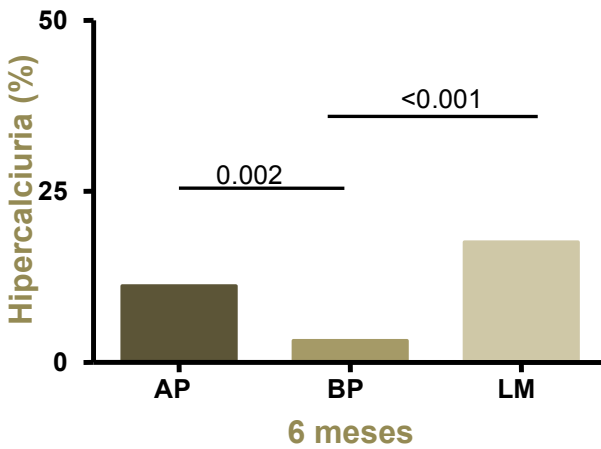
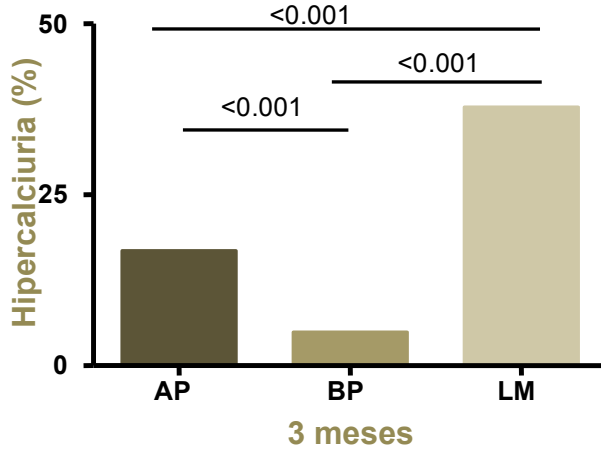
AP.- Fórmula alta en proteína; BP.- Fórmula baja en proteína; FGe.- Filtrado glomerular estimado.

5.2.4. PREVALENCIA DE HIPERCALCIURIA EN FUNCIÓN DEL TIPO DE ALIMENTACIÓN.

El consenso para el diagnóstico de hipercalciuria en niños/as menores de dos años es presentar un ratio Ca/Cr urinario superior a 0.80 mg/mg ¹⁵⁸. Según este criterio, analizamos la prevalencia de niños hipercalciúricos a los 3 y 6 meses según el tipo de alimentación (Figura 11). Observamos que la prevalencia de hipercalciuria a los 3 meses fue significativamente mayor entre los niños alimentados con LM en comparación con los dos grupos alimentados con fórmula infantil, y a los 6 meses en comparación con los alimentados con BP.

Tanto a los 3 como a los 6 meses, el grupo AP mostró tener una mayor prevalencia de hipercalciuria en comparación con el grupo de BP.

Figura 11. Prevalencia de hipercalcemia según el tipo de alimentación (a los 3 y 6 meses).



AP.- Alta proteína; BP.- Baja proteína; LM.- Lactancia materna

De todos los niños diagnosticados de hipercalcemia a los 3 meses (n=127), obtuvimos 79 nuevas muestras a los 6 meses. Dieciocho niños que habían

sido diagnosticados de hipercalcemia a los 3 meses, lo seguían siendo a los 6 meses. Éstos datos corresponden a un acuerdo de 22.8% y un cociente Kappa de 0.201 ($p < 0.001$). A pesar de este resultado, cuando se realizó el análisis diferenciando el tipo de alimentación, tan solo los lactantes alimentados con AP tenían un cociente Kappa significativo en el diagnóstico de hipercalcemia a los 3 y 6 meses ($k = 0.245$, $p = 0.001$).

5.2.5. PERCENTILES DE CALCIURIA EN FUNCIÓN DEL TIPO DE ALIMENTACIÓN.

Calculamos los valores de los percentiles para la relación Ca/Cr para cada grupo de alimentación: lactantes alimentados con LM, lactantes alimentados con lactancia artificial y lactantes alimentados con las fórmulas AP o BP por separado.

Mostramos que a los 3 y 6 meses, el grupo que había sido alimentado con LM tenía valores más elevados para los percentiles calculados (Tabla 19). Cabe destacar la magnitud de la diferencia entre grupos para el percentil 95, el cual se usa para el diagnóstico de hipercalcemia. El percentil 95 del grupo LM era un 30-40% superior al del grupo AP y el doble que el grupo BP.

Cuando aplicamos los percentiles 95 específicos para edad y tipo de alimentación calculados en nuestro estudio para el diagnóstico de hipercalcemia, obtuvimos un grado de acuerdo de hipercalcemia entre los 3 y 6 meses similares a los obtenidos con el punto corte convencional, sin alcanzar la significación estadística (acuerdo en diagnóstico positivo de 11.1%, cociente Kappa 0.061, $p = 0.183$).

Tabla 19. Percentiles de Ca/Cr urinario (mg/mg) en función del tipo de alimentación (3 y 6 meses)

Valor percentil ratio Ca/Cr (mgr/mgr)	AP	BP	LM
3 meses	(n=269)	(n=286)	(n=185)
Percentil 25 (mg/mg)	0.26	0.16	0.43
Percentil 50 (mg/mg)	0.43	0.31	0.68
Percentil 75 (mg/mg)	0.69	0.48	1.0
Percentil 95 (mg/mg)	1.20	0.80	1.67
6 meses	(n=217)	(n=225)	(n=138)
Percentil 25 (mg/mg)	0.17	0.09	0.21
Percentil 50 (mg/mg)	0.35	0.25	0.40
Percentil 75 (mg/mg)	0.54	0.38	0.66
Percentil 95 (mg/mg)	0.97	0.62	1.22

AP: Fórmula alta en proteína; BP: Fórmula baja en proteína; LM: Lactancia materna.

6. DISCUSIÓN

6. DISCUSIÓN

6.1. HIPERCALCIURIA IDIOPÁTICA Y MASA MINERAL ÓSEA EN NIÑOS A LOS 7 AÑOS

Hasta la fecha, éste es el primer estudio que muestra que los niños con hipercalciuria idiopática asintomática tienen una reducción de la DMO, lo cual podría dar lugar a consecuencias óseas a largo plazo.

6.1.1. PREVALENCIA DE HC EN NIÑOS A LOS 7 AÑOS DE EDAD

La **prevalencia** de HC en edad pediátrica puede llegar a variar del 0.6% al 38%¹⁶⁶ dependiendo de la zona geográfica estudiada. En España se ha reportado una prevalencia del 7.8 % al 16%^{56,167}.

Para el diagnóstico de hipercalciuria usamos un protocolo general, sin determinar el subtipo de hipercalciuria (resortivo, renal o absortivo), ya que no se ha mostrado una clara diferencia entre ellos en cuanto a manifestaciones clínicas o salud del hueso¹⁶⁸. En nuestra población la prevalencia se ha mostrado en el rango alto español con un 17.7%.

6.1.2. FACTORES MODULADORES DE LA EXCRECIÓN URINARIA DE CALCIO A LOS 7 AÑOS.

Existen múltiples factores que pueden modular la excreción urinaria de calcio, como son: la etnia, la región dónde viven los participantes⁶⁰, la edad, el tamaño corporal o la ingesta de ciertos nutrientes nutrientes^{13,169,170}. Para tener seguridad de que el diagnóstico de

hipercalciuria se debe a motivos genéticos, relacionados con la patología metabólica asociada a litiasis, y no a una hipercalciuria fisiológica asociada a estos factores moduladores, es preciso analizar su influencia. En nuestra muestra de estudio, muchos de estos factores fueron minimizados, ya que las características de edad, etnia o región geográfica de los participantes fueron similares. Otro de los factores que habitualmente se asocian a la calciuria es el IMC. Se ha demostrado que existe una asociación positiva entre el IMC y la excreción urinaria de sodio, calcio, ácido úrico y citrato. Además, se ha asociado el sobrepeso con el aumento del riesgo de padecer litiasis cálcicas tanto en niños como en adultos hipercalciúricos¹⁷¹. En nuestro estudio no encontramos ningún tipo de asociación entre las variables antropométricas y la calciuria, probablemente porque la edad y las características antropométricas de nuestros participantes fueron semejantes.

De los factores nutricionales que pueden afectar la calciuria, nos centraremos en la ingesta de calcio y la ingesta proteica, por ser dos de los más importantes.

Hay diversos estudios epidemiológicos que han mostrado relaciones significativas entre la ingesta dietética de calcio y la calciuria, pero se ha observado que esta influencia es de baja magnitud tanto en sujetos normales, como en aquellos que tienen cálculos renales¹⁷².

Las ingestas diarias de calcio de los participantes hipercalciúricos de nuestro estudio fueron similares a la de los controles. Así pues, la excreción urinaria de calcio no estaba mediatizada por el contenido de calcio de la dieta.

La ingesta media de calcio de todos nuestros participantes fue de 854.3 ± 398.6 mg/día, media superior a los requerimientos nutricionales para la edad según la OMS⁶⁴.

Por otra parte, analizamos si la ingesta elevada de proteína podría ocasionar un incremento de la excreción urinaria de calcio. Al no contar con valoración directa de la ingesta de proteína, utilizamos el cociente urea/creatinina para realizar una estimación indirecta de la misma, y así poder controlar el posible efecto de este nutriente sobre la calciuria. Diversos estudios realizados muestran que la ingesta proteica no se puede estimar tan solo a través de la urea. El cociente urea/creatinina en cambio, es un buen indicador para informarnos de la ingesta proteica del participante^{149,150,167}, además de ser un buen marcador de sobrecarga nitrogenada funcional sobre el riñón.

Encontramos una pequeña correlación entre la relación urea/creatinina y la calciuria, aún así, comprobamos que la diferencia entre los grupos de niños con HC y normales, no alcanzaba diferencia estadística.

Así pues, descartamos la ingesta de calcio y la ingesta proteica como posibles causas primarias de hipercalciuria de nuestros participantes.

Otros nutrientes que podrían influir en la excreción urinaria y no pudimos analizar fue la ingesta de sodio y el fósforo, considerándose una limitación para nuestro estudio.

6.1.3. PREVALENCIA DE OSTEOPONIA EN NIÑOS CON HC ASINTOMÁTICA A LOS 7 AÑOS.

La prevalencia de osteopenia en niños con hipercalciuria sintomática se encuentra alrededor del 30-47%¹²⁹. En nuestra muestra observamos una prevalencia de osteopenia del 22%; un resultado menor al reportado por otros estudios. Esto podría deberse a que nuestros participantes eran más jóvenes respecto a los estudios anteriormente publicados y a que el nivel calciuria podría ser de menor rango en pacientes que no presentan sintomatología.

La prevalencia de desmineralización ósea (DMO < -2 desviaciones estándar respecto a la población de referencia) de nuestra muestra fue de 3.2% y 1.5% en hipercalciúricos y controles respectivamente, no siendo una diferencia significativa. Aún así, el hecho de que la DMO total z-score de los participantes con HC sea ya inferior a los 7 años de edad, comparado con el grupo control, es un dato muy relevante, ya que estaría dibujando a un grupo poblacional asintomático que puede estar en riesgo de conseguir un pico de masa ósea inferior, lo cual puede tener consecuencias futuras sobre la salud ósea del adulto. Que el proceso diagnóstico de esta patología sea sencillo y poco invasivo, hace que pueda llegar a recomendarse un cribaje universal de esta enfermedad en la edad escolar.

6.1.4. FACTORES MODULADORES DE LA DMO

Durante la etapa de crecimiento hay un gran aumento de la masa ósea así como también un incremento de su DMO. Este proceso está influenciado por factores genéticos, ambientales¹⁷³ y hormonales¹¹⁸.

De los **factores ambientales**, los más importantes para conseguir una DMO adecuada son la ingesta de calcio y el ejercicio físico, junto a la buena disponibilidad de vitamina D¹⁵⁶.

Dos meta-análisis, de 21 ensayos clínicos aleatorizados, concluyeron que el incremento de ingesta de calcio y de productos lácteos, con o sin vitamina D, aumentaba el CMO total y lumbar en niños con baja ingesta previa¹¹⁰. Otro meta-análisis de 19 ensayos clínicos aleatorizados, incluyó 2859 participantes sanos de edades comprendidas entre los 3 y 18 años; estos niños mostraron tener un incremento en el CMO cuando se les suplementó entre 300 y 1200 mg de calcio al día¹⁷⁴.

Es importante comentar, que a partir de los nueve años los requerimientos de calcio de la población infantil española se ven aumentados, pero su ingesta puede encontrarse disminuida. Esta es una edad crítica; los niños tienden a sustituir la leche y derivados por bebidas carbonatadas (ricas en cafeína y ácido fosfórico) lo que aumenta el riesgo de padecer osteoporosis y fracturas en edad adulta^{2,175}. La ingesta dietética de calcio entre los participantes hipercalcémicos y controles de nuestro estudio fueron muy similares. Aún y así, el porcentaje de niños que tenía una ingesta de calcio inferior a la recomendada por la OMS, fue mas alto en el grupo de HC pero sin llegar a ser estadísticamente significativo. En referencia al consumo de bebidas carbonatadas, los dos grupos mostraron tener una ingesta muy similar.

Otro nutriente que podría modular la DMO es la proteína. Se ha observado que una ingesta dietética rica en proteína animal, produce una sobrecarga ácida metabólica que ocasiona una movilización del sistema tampón óseo. Esto puede favorecer la pérdida de los depósitos de calcio. Además una ingesta proteica elevada provoca una sobrecarga funcional renal, por un incremento de sustancias nitrogenadas que causan una hiperfiltración glomerular que puede conducir a una pérdida renal de calcio y otras sustancias filtradas. Éstos mecanismos, dan lugar a un balance negativo de calcio y una pérdida de masa ósea¹²⁹.

En nuestro estudio, no encontramos ningún tipo de asociación entre las ingestas de calcio, ni de proteína con la DMO, probablemente porque los valores de ingesta de estos nutrientes se encontraban dentro de la normalidad para edad en nuestra muestra de estudio.

Por otra parte, se conoce el efecto positivo que ejerce la actividad física sobre la masa ósea.

La actividad física durante la primera infancia y la adolescencia, parece ser un factor predictor importante de la masa ósea máxima; puede representar hasta el 17% de la variación en la DMO en individuos a finales de los 20 años¹⁷³. El ejercicio que se inicia durante la infancia y pubertad, parece ser el más beneficioso para la mejora de la masa ósea.

En nuestro estudio, el nivel de ejercicio físico fue similar en ambos grupos (hipercalcémicos y controles); pero tal y como se esperaba, encontramos asociaciones directas entre la actividad física y el CMO total, así como también con el BMAD z-score lumbar. Por lo tanto, ajustamos el efecto de HC en la DMO por la actividad física en nuestros análisis multivariantes.

Dado que este no era el objetivo principal del estudio, sino que este trabajo de tesis es fruto de un análisis secundario, no controlamos los posibles **factores hormonales** asociados a la masa ósea. El momento de la vida en que se produce el pico de adquisición de masa ósea es la pubertad. Es en este momento en que los factores hormonales pueden ejercer un mayor efecto sobre la DMO. El hecho de que los participantes de nuestro estudio tengan todos la misma edad y sean pre-púberes minimiza el riesgo de producirse un sesgo en nuestros análisis debido a factores hormonales no controlados.

El **tamaño o envergadura corporal** es uno de los principales factores moduladores de la masa ósea. Tener un peso corporal o IMC bajo, aumenta el riesgo de padecer fracturas a largo plazo¹⁷⁶. Al contrario, se ha observado que tener un IMC elevado es un factor protector¹⁷⁷. Se ha relacionado el peso corporal con la DMO total en adultos, posiblemente como consecuencia de la tensión mecánica que éste ejerce.

En consecuencia, valoramos la posible asociación entre las variables antropométricas y la DMO a los 7 años, siendo el peso el más correlacionado con la DMO.

Es de interés comentar, que la DMO de la columna es distinta a la del cuerpo total. El hueso de la columna lumbar está constituido básicamente por hueso trabecular que está influido por el peso corporal, y el hueso del cuerpo total, el cual el 80% está constituido por hueso cortical y está más influenciado por la nutrición i la actividad física¹⁷⁸.

Con nuestro estudio corroboramos estas características y mecanismos y observamos una fuerte asociación entre las variables antropométricas y DMO lumbar comparado con las DMO total.

Por tanto, la mayoría de los factores confusores que podrían alterar la calciuria de nuestra muestra fueron controlados. Aun y así, la DMO mostró ser más reducida en el grupo diagnosticado de HC. Entre los factores confusores, la antropometría y la actividad física fueron los que podrían estar mejor relacionados con la DMO. Con el análisis multivariante, pero, demostramos que tanto la antropometría, los factores dietéticos y la actividad física no interfirieron en la mineralización ósea.

6.1.5. RELACIÓN DE LA DMO CON LA HC A LOS 7 AÑOS.

La causa primaria de que haya una pérdida renal de calcio en los pacientes hipercalcémicos es un defecto relativo de la reabsorción del calcio filtrado, mecanismo que ocurre incluso en los niños con un aumento de la absorción intestinal. Esta pérdida mantenida de calcio ocasiona un balance negativo de este elemento, que condiciona la pérdida de masa ósea en los pacientes¹⁰.

Se ha especulado que la pérdida de hueso en niños con HC, puede producirse por el aumento de la resorción ósea, por la disminución de la formación ósea, o por ambos. Conocer cuál es el principal mecanismo es controvertido; varios autores argumentan que la pérdida ósea sería coherente con el aumento de la resorción y / o recambio óseo pudiéndolo que puede ser detectado precozmente en el hueso trabecular de la columna lumbar¹²⁹, pero otros defienden la idea de que la baja DMO se debe principalmente a una supresión de la formación ósea, especialmente

en pacientes con hipercalciuria absorptiva. Independientemente de cuál sea el mecanismo, el hallazgo frecuente es la frecuente disminución de la DMO en niños diagnosticados de HC.

En 1992, Perrone y colaboradores, examinaron 20 niños con HC, fruto del aumento de absorción de calcio intestinal. En el momento del diagnóstico se observó que el 20% de los niños presentaba una disminución de la DMO en la columna lumbar¹²⁴. Son varios los estudios que han mostrado una asociación entre osteopenia y la HC en niños sintomáticos, con un intervalo de 30-47%¹²⁹. Un estudio de 46 participantes encontró valores significativamente más bajos de DMO z-score tanto en la columna lumbar como en el fémur de los pacientes con HC continua comparado con aquellos que la tenían controlada o intermitente^{124,133}.

Varios estudios han reportado asociaciones inversas entre DMO y la edad en pacientes con HC¹⁷⁹. Por lo tanto, parece que la pérdida ósea puede estar influenciada tanto por la magnitud como la persistencia de la calciuria elevada; así, los periodos prolongados de hipercalciuria afectaran la estructura ósea. En el estudio de Gracia-Nieto se pone de manifiesto que el porcentaje de niños hipercalciúricos sintomáticos con osteopenia a los 7 años, era muy similar a nuestros datos.

De todas formas, en los niños que presentan una HC asintomática, la intensidad de la calciuria podría ser menor y por lo tanto la afectación del hueso podría ser más leve. Nosotros pudimos mostrar una disminución significativa de la DMO total z-score entre los niños hipercalciúricos, con una leve disminución del área lumbar (no significativa) en comparación con los controles. Esto podría explicarse por la presumible menor pérdida de calcio en los pacientes asintomáticos, lo cual conduciría de forma

precoz a una pérdida de depósitos óseos, sin producir tanta afectación estructural como la que presentan los pacientes asintomáticos manifestados en la afectación del hueso trabecular lumbar.

Finalmente, comentar que como hemos dicho con anterioridad, en nuestro estudio pudimos controlar la mayoría de los factores involucrados en la DMO y en la excreción urinaria de calcio. Aun y así, una limitación de nuestro estudio podría ser que no controlamos la ingesta dietética de vitamina D y asumimos que todos nuestros participantes tenían un efecto similar de esta vitamina por el área geográfica dónde vivían.

En nuestro estudio no hicimos distinción entre los subtipos de hipercalciuria, y esto podría hacer modular nuestros resultados; ya que el daño óseo que se produce en los pacientes con hipercalciuria resortiva es mucho mayor que en el absortivo, aun teniendo una prevalencia inferior.

La edad de los participantes y la duración de nuestro estudio podrían considerarse como otra limitación. Tan solo incluimos niños de 7 años de edad, y las evaluaciones se realizaron como un estudio transversal, no pudiendo hacer un seguimiento de estos niños a largo plazo. A pesar de esta limitación, pudimos observar la afectación ósea en edad temprana.

6.2. VALORACIÓN DE LA EXCRECIÓN URINARIA DE CALCIO EN EL LACTANTE.

Sabemos que diversos factores nutricionales pueden influir de forma fisiológica sobre la excreción urinaria de calcio. Pero existen pocos

estudios que tengan en cuenta el tipo de alimentación del lactante en la valoración de la calciuria. Según nuestro conocimiento, este es el primer estudio que ha valorado la influencia de diferentes contenidos proteicos en las fórmulas infantiles y del tipo de alimentación (lactancia materna o artificial) sobre la excreción urinaria de calcio.

6.2.1. EFECTO DE LA INGESTA PROTEICA.

Como se ha comentado anteriormente en este trabajo de tesis, la ingesta de proteína puede modular la excreción urinaria de calcio. Nuestro estudio, bajo un diseño de ensayo clínico aleatorizados, mostró que los niños que habían sido alimentados con la fórmula infantil con mayor contenido proteico tenían una excreción urinaria de calcio mayor que los que habían sido alimentados con la fórmula infantil con menor contenido proteico. Este modelo de estudio permite comprobar la relevancia de este factor nutricional con un alto grado de evidencia, pues se trata de un diseño aleatorizado y doble ciego sobre una muestra amplia donde la intervención es la dieta y ésta está totalmente controlada, pues la fórmula infantil era el alimento principal de la dieta en ambos grupos.

Los resultados de nuestro estudio reafirmaron los previamente publicados por otros autores, mostrando una asociación de la ingesta proteica con la excreción urinaria de calcio en niños¹⁸⁰.

Los mecanismos por los cuales se podría producir esta asociación son, en primer lugar, la acidificación que puede producir la sobrecarga de proteína. Esta acidificación podría activar los mecanismos fisiológicos de tampón, como el depósito de fosfato cálcico de los huesos, incrementando los niveles plasmáticos de calcio y haciendo aumentar la

calciuria. En segundo lugar, el aumento de ingesta proteica podría aumentar la carga renal, dando lugar a un aumento del volumen renal y de su tasa de filtración glomerular⁷⁵, pudiendo provocar el arrastre de otros productos de excreción como el calcio. Mediante los modelos de regresión multivariante, mostramos que el principal efecto sobre la calciuria provenía del contenido proteico de las fórmulas lácteas, más que del volumen o el filtrado glomerular. Este dato puede hacernos especular que posiblemente sea la capacidad de acidificación de las proteínas lo que modifica la calciuria, más que la sobrecarga funcional o estructural que provoca en el riñón.

6.2.2. EFECTO DE LA LACTANCIA MATERNA

El resultado más revelador de nuestro estudio fue la elevada excreción de calcio observada en niños sanos alimentados con lactancia materna comparada con los niños alimentados con lactancia artificial. Estas diferencias fueron especialmente llamativas puesto que se conoce que el contenido de calcio de la leche humana es menor que el de las fórmulas infantiles más habituales (concretamente el contenido proteico de la leche humana es similar a la fórmula de BP utilizada en nuestro estudio). Sin embargo, observamos que la excreción urinaria de calcio fue más alta en los bebés alimentados con LM (en comparación con los alimentados con las fórmulas BP y AP). Concretamente, los lactantes alimentados con LM duplicaron la excreción de Ca/Cr de los lactantes que habían sido alimentados con la fórmula BP.

Nuestro estudio concuerda con los datos de trabajos previos en los que se mostraba que los niños alimentados con LM presentaban niveles superiores de absorción intestinal de calcio y de calciuria¹⁸¹.

Es conocido que la cantidad de calcio en la leche humana es de aproximadamente 25 mg/100mL^{182,183}, mientras que el de las fórmulas de nuestro estudio fue de 78 y 84 mg/100mL en las fórmulas de inicio y de 120 y 117 mg/100mL en las fórmulas de continuación, en los grupos AP y BP respectivamente. La concentración de fósforo también varió entre un tipo de alimentación y otro, siendo de unos 15mg/100ml aproximadamente en la leche materna^{182,183}, de 70 y 65 mg/ml para las fórmulas de inicio y de 95 y 87/100 ml para las fórmulas de continuación, en los grupos de AP Y BP respectivamente.

Considerando que el contenido calórico de la leche humana es parecido al de las fórmulas¹⁸⁴, y asumiendo que el volumen de leche ingerida por los lactantes fue similar entre niños alimentados con leche materna y niños alimentados con fórmula infantil, podríamos suponer que los niños alimentados con leche humana tuvieron una ingesta de aproximadamente 200-250mg/día de calcio a los 3 meses, mientras que en los alimentados con fórmula infantil fue de 652±118 mg/día. Referente a la ingesta de fósforo, su ingesta estimada en los niños alimentados con leche materna es aproximadamente de 100 mg/día y en los niños alimentados con fórmula 555± 103 mg / día. Teniendo en cuenta estos datos, la relación Ca/P de la leche materna es de 2 a 2.5 aproximadamente mientras que la de las fórmulas es cercana a 1. Esta diferencia en la relación calcio/fósforo podría suponer una deficiencia relativa de fósforo en la leche materna, y

estaría mediando una mayor excreción de calcio en orina en los niños alimentados con LM.

En nuestra opinión, estos resultados plantean la necesidad de establecer distintos límites para el diagnóstico de hipercalciuria teniendo en cuenta el tipo de alimentación del lactante (leche materna o leche de fórmula)¹⁸⁵. En la actualidad, es difícil establecer un consenso sobre los valores máximos de excreción de urinaria de calcio/creatinina considerados normales para las diferentes edades y poblaciones^{60,55,4} ya que la calciuria puede depender de algunos factores de modulación como son la etnia, la exposición solar y los hábitos dietéticos que varían según la población estudiada.

Nosotros proponemos que el tipo de alimentación es especialmente importante durante los primeros meses de vida para determinar si la excreción de calcio es normal o es potencialmente patológica.

6.2.3. PUNTOS DE CORTE PARA EL DIAGNÓSTICO DE HIPERCALCIURIA EN EL LACTANTE.

El concepto de hipercalciuria se fundamenta en criterios estadísticos epidemiológicos, situando los valores patológicos de excreción urinaria de calcio, aquellos que superan el percentil 95 de la población general, para una determinada edad. Así, un 5% de la población, aproximadamente, tendría una excreción urinaria de calcio excesiva. Al utilizar el punto de corte convencional para el diagnóstico de hipercalciuria para niños menores de 7 meses (0.80 mg/mg, correspondientes al percentil 95 de poblaciones infantiles), observamos que el 37.8% de los niños alimentados con LM presentaban un diagnóstico positivo; esta era una prevalencia

muy elevada si la comparáramos con el 16.8% y 4.9% de los lactantes alimentados con la fórmula de AP y BP respectivamente, y con lo esperado para la población general (aproximadamente el 5%). Por tanto el punto de corte convencional podría sobreestimar la prevalencia de hipercalcemia en el niño alimentado con lactancia materna, no siendo reflejo de una hipercalcemia patológica, sino de una situación fisiológica modificada por la alimentación. Debido a que la excreción anormal de calcio es considerada una cantidad mayor que la excreción de calcio para el 95% de la población, no sería razonable aceptar que más de un tercio de la población estándar (en lugar del 5%) estuviera en riesgo patológico. De hecho, la mayor parte de los estudios que han investigado los factores de riesgo en la infancia no se han centrado en el tipo de alimentación, pero hasta la fecha nadie ha mostrado una prevalencia superior de litiasis urinaria u otras complicaciones en los niños amamantados.

El hecho de que el diagnóstico de hipercalcemia a los 3 y 6 meses no tuviera un alto grado de concordancia (datos no mostrados), reforzó la idea de que no se trataba de una hipercalcemia de base genética, sino influida por factores dietéticos transitorios, lo que refuerza nuestra hipótesis.

Los niveles de normalidad de calcio en lactantes se han establecido partiendo de estudios poblacionales de diseño transversal sin tener en cuenta estos factores moduladores, como el tipo de leche consumida a esa edad. Solo hemos encontrado referencias que interrelacionan la calcemia con el tipo de alimentación en un estudio epidemiológico realizado con niños turcos por Erol y colaboradores; en ese estudio se

definieron distintos niveles de normalidad en la excreción urinaria de calcio en su población⁵⁸. En un subanálisis, los autores comentaron que los niños que habían sido alimentados con LM mostraron menores niveles de calciuria comparado con los que habían sido alimentados con lactancia mixta o artificial exclusiva. Sus resultados son disonantes con los nuestros, pero como otros datos fisiológicos aportados sobre su muestra son poco congruentes, como la presencia de niveles de excreción sodio elevados, que contradicen la situación de hiperaldosteronismo fisiológico descrita a esa edad, hace que los datos de ese estudio deban ser analizados con prudencia.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio nos llevan a proponer diferentes puntos de corte para el diagnóstico de la hipercalciuria en función del tipo de alimentación (LM, fórmula infantil). De acuerdo con las tendencias actuales de disminuir el suministro de proteína a través de las fórmulas infantiles^{137,186} en nuestro medio, consideramos que el p95 obtenido en el grupo de BP (1.25g de proteína/ dl en la fórmula infantil) sería el punto de corte apropiado para el diagnóstico de hipercalciuria para los niños alimentados con fórmula infantil en la actualidad. El p95 de este grupo fue de 0.80 mg/mg a los 3 meses y de 0.62 mg/mg a los 6 meses. Sin embargo, en otros países o medios en que el aporte proteico de las fórmulas infantiles en el mercado siga siendo más elevado, podría considerarse como válido el punto de corte proporcionado por la media de las fórmulas infantiles.

La limitación principal de nuestro estudio es que el grupo de LM puede tener cierto grado de lactancia mixta a los 6 meses de edad. Otra

limitación es que los datos correspondientes a la excreción urinaria de calcio no corresponden a una recogida de 24 horas sino a una muestra aislada; no pudiendo estar seguros que estas muestras recogidas al azar (sin ayuno o con una ingesta previa protocolizada) se correlacionen correctamente con la calciuria. Sin embargo, hemos utilizado un método de valoración de la calciuria aceptado, especialmente en casos como el del presente estudio, en el cual una recogida de orina de 24h tiene un compromiso ético importante (por la molestia que se ocasionaría en un lactante sano en el que tal prueba invasiva no sería necesaria).

Aun teniendo estas limitaciones, consideramos que los resultados de nuestro estudio son robustos, ya que hemos controlado por los posibles factores que podrían estar relacionados con la excreción urinaria de calcio (dieta, antropometría y volumen renal). Estos datos han sido obtenidos en una muestra amplia de niños de distintos países, lo que favorece una extrapolación a la población independiente de factores genéticos.

Los resultados de nuestro estudio, así como la propuesta de puntos de corte para el diagnóstico de hipercalciuria específicos según el tipo de alimentación y edad son de gran relevancia clínica, ya que hasta la actualidad podría estar produciéndose un sobre diagnóstico de hipercalciuria en lactantes alimentados con lactancia materna, que por otra parte, no se ha asociado a mayores complicaciones posteriores (como menor mineralización ósea o mayor riesgo de litiasis).

7. CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES

1. Los niños de edad escolar diagnosticados de hipercalciuria idiopática asintomática presentan una densidad mineral ósea total z-score inferior respecto a los que no la presentan.
2. Los niños diagnosticados de hipercalciuria idiopática asintomática muestran un porcentaje superior de osteopenia que quienes no la presentan.
3. La prevalencia de hipercalciuria idiopática asintomática en nuestra población a los 7 años de edad es del 17.7%.
4. La calciuria en la infancia está marcadamente influenciada por la alimentación y el contenido proteico de las fórmulas infantiles.
5. Los lactantes alimentados con leche materna tienen una excreción urinaria de calcio más elevada que los alimentados con fórmula infantil (ya tenga un contenido proteico alto o bajo) lo que sugiere que el criterio de diagnóstico deba modificarse en función de la alimentación del lactante (leche materna o leche de fórmula).
6. Proponemos nuevos puntos de corte para el diagnóstico de hipercalciuria en los lactantes de 3 y 6 meses de edad siendo de 1.67 y 1.22 (LM), 1.20 y 0.97 (AP) y 0.80 y 0.62 (BP) respectivamente.

8. FINANCIACIÓN

8. FINANCIACIÓN

Los estudios presentados en este trabajo se han realizado con el apoyo parcial de la Unión Europea, dentro del 5º Framework Programme, becas de investigación nº QLRT-2001-00389 y nº QLK1-CT-2002-30582; el 6º Framework Programme, con el contrato nº 007036, y el 7º Framework Programme (FP7/2008-2013), en virtud de los acuerdos de subvención nº 212652 y nº 289346. Este manuscrito no refleja necesariamente la opinión de la Comisión, y de ninguna manera anticipa la futura política en éste ámbito. La doctoranda, ha disfrutado para la ejecución de su tesis de una Beca Predoctoral de la Universitat Rovira i Virgili y de La Fundación Privada Reddis; Ayuda predoctoral para la realización de la Tesis Doctoral.

9. BIBLIOGRAFÍA

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Johnell, O. The socioeconomic burden of fractures: Today and in the 21st century. *Am. J. Med.* **103**, S20–S26 (1997).
2. Alonso Franch, M., Redondo Del Rio, M. P., Suarez Cortina, L. & Pediatría, E. N. del C. de N. de la A. E. de. Nutrition and bone health in children. *An. Pediatr. (Barc)*. **72**, 80.e1–80.11 (2010).
3. Penido Guimarães, M.-G. M. *et al.* Bone alterations in children with idiopathic hypercalciuria at the time of diagnosis. *Pediatr. Nephrol.* 133–139 (2003).
4. Sargent, J. D., Stukel, T. A., Kresel, J. & Klein, R. Z. Normal values for random urinary calcium to creatinine ratios in infancy. *J. Pediatr.* **123**, 393–7 (1993).
5. Ghazali, S. & Barratt, T. M. Urinary excretion of calcium and magnesium in children. *Arch. Dis. Child.* **49**, 97–101 (1974).
6. Stapleton, F. B., Noe, H. N., Roy, S. & Jerkins, G. Hypercalciuria in children with urolithiasis. *Am. J. Dis. Child.* **136**, 675–8 (1982).
7. Safaei Asl, A., Heidarzadeh, A., Maleknejad, S. & Moradi, B. Hypercalciuria in school-aged children of Rasht: a single-center study. *Iran. J. Kidney Dis.* **7**, 265–7 (2013).
8. Kaneko, K. *et al.* Low prevalence of hypercalciuria in Japanese children. *Nephron* **91**, 439–443 (2002).
9. Kaneko, K. *et al.* Extremely high prevalence of hypercalciuria in children living in the Aral Sea region. *Acta Paediatr.* **91**, 1116–1120 (2002).
10. Worcester, E. M. & Coe, F. L. New Insights Into the Pathogenesis of Idiopathic Hypercalciuria. *Nephrolithiasis* **28**, 120–132 (2008).
11. Srivastava T, A. U. Pathophysiology of hypercalciuria in children. *Pediatr. Nephrol.* **22**, 1659–1673 (2007).

12. Insogna KL, Broadus AE, Dreyer BE, Ellison AF, G. J. Elevated production rate of 1, 25-dihydroxyvitamin D in patients with absorptive hypercalciuria. *J Clin Endocrinol Metab* **61**, 490–495 (1985).
13. Escribano, J., Balaguer, A., Roqué i Figuls, M., Feliu, A. & Ferre, N. Dietary interventions for preventing complications in idiopathic hypercalciuria. *Cochrane database Syst. Rev.* **2**, CD006022 (2014).
14. Pak CYC, OhataM, Lawrence EC, S. W. The hypercalciuria: causes, parathyroid functions and diagnostic criteria. *J. Clin. Invest.* **54**, 387–400 (1974).
15. CYC, P. Kidney stones: various forms and treatment. *Nephron* **23**, 142–146 (1979).
16. Ordoñez, J. Diagnóstico y manejo clínico del paciente con urolitiasis. *Acta Medica Colomb.* **3**, (1978).
17. Messa, P. *et al.* About a primitive osseous origin of the so-called 'renal hypercalciuria'. *Contrib. Nephrol.* **58**, 106–110 (1987).
18. Aladjem, M., Barr, J., Lahat, E. & Bistritzer, T. Renal and absorptive hypercalciuria: a metabolic disturbance with varying and interchanging modes of expression. *Pediatrics* **97**, 216–219 (1996).
19. Fivush, B. Irritability and dysuria in infants with idiopathic hypercalciuria. *Pediatr. Nephrol.* **4**, 262–263 (1990).
20. Alon, U. S., Zimmerman, H. & Alon, M. Evaluation and treatment of pediatric idiopathic urolithiasis-revisited. *Pediatr. Nephrol.* **19**, 516–520 (2004).
21. Lau, K. K. Clinical manifestations of pediatric idiopathic hypercalciuria. *Front. Biosci. (Elite Ed).* **1**, 52–59 (2009).
22. Garcia-Nieto, V., Ferrandez, C., Monge, M., de Sequera, M. & Rodrigo, M. D. Bone mineral density in pediatric patients with idiopathic hypercalciuria. *Pediatr. Nephrol.* **11**, 578–583 (1997).

23. Misael da Silva, A. M. *et al.* Bone involvement in idiopathic hypercalciuria. *Clin. Nephrol.* **57**, 183–191 (2002).
24. Escribano Subias, J. *et al.* Idiopathic hypercalciuria: clinical manifestation, outcome and risk for urolithiasis in children. *An. Esp. Pediatr.* **46**, 161–166 (1997).
25. Moore, E. S. Hypercalciuria in children. *Contr Nephrol Basell. New YorkKarger* 20–32 (1981).
26. Stapleton FB, McKay CP, N. N. Urolithiasis in children:the role of hypercalciuria. *Pediatr Ann* **16**, 980–992 (1987).
27. Escribano J, Vicente M, Granados A, E. R. Alteraciones metabólicas en la nefrolitiasis pediátrica. *Acta Ped Esp* **52**, 279–282 (1994).
28. Gilberto González, V. Litiasis renal: estudio y manejo endocrinológico. *Rev. Médica Clínica Las Condes* **24**, 798–803 (2013).
29. Coe, F. L., Evan, A. P., Worcester, E. M. & Lingeman, J. E. Three pathways for human kidney stone formation. *Urol. Res.* **38**, 147–60 (2010).
30. La Manna, A. *et al.* Calyceal microlithiasis in children: report on 196 cases. *Pediatr. Nephrol.* **12**, 214–217 (1998).
31. Polito, C. *et al.* Clinical presentation and natural course of idiopathic hypercalciuria in children. *Pediatr. Nephrol.* **15**, 211–214 (2000).
32. Escribano, J., Balaguer, A., Martín, R., Feliu, A. & Espax, R. Childhood idiopathic hypercalciuria--clinical significance of renal calyceal microlithiasis and risk of calcium nephrolithiasis. *Scand. J. Urol. Nephrol.* **38**, 422–426 (2004).
33. Bergsland, K. J. *et al.* Urine risk factors in children with calcium kidney stones and their siblings. *Kidney Int.* **81**, 1140–1148 (2012).

34. Özokutan, B. H. *et al.* Urolithiasis in childhood. *Pediatr. Surg. Int.* **16**, 60–63 (2000).
35. Bergstein, J., Leiser, J. & Andreoli, S. The clinical significance of asymptomatic gross and microscopic hematuria in children. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.* **159**, 353–355 (2005).
36. Cervera, A. *et al.* Idiopathic hypercalciuria in children. Classification, clinical manifestations and outcome. *Acta Paediatr. Scand.* **76**, 271–8 (1987).
37. Garcia, C. D., Miller, L. A. & Stapleton, F. B. Natural history of hematuria associated with hypercalciuria in children. *Am. J. Dis. Child.* **145**, 1204–7 (1991).
38. Alon, U., Warady, B. A. & Hellerstein, S. Hypercalciuria in the frequency-dysuria syndrome of childhood. *J. Pediatr.* **116**, 103–105 (1990).
39. Escribano, J., Feliu, A., Balaguer, A., Espax, R. & Soler, L. Symptomatology and development of urolithiasis in children with frequency-dysuria syndrome associated with hypercalciuria. *Croat. Med. J.* **40**, 80–4 (1999).
40. Vachvanichsanong, P., Malagon, M. & Moore, E. S. Urinary incontinence due to idiopathic hypercalciuria in children. *J. Urol.* **152**, 1226–1228 (1994).
41. Pace, G. *et al.* Nocturnal enuresis can be caused by absorptive hypercalciuria. *Scand. J. Urol. Nephrol.* **33**, 111–114 (1999).
42. Marrero Perez, C. L., Garcia Nieto, V. & Luis Yanes, M. I. Study of renal morphology and function in children with nocturnal enuresis. Relationship with sensitivity or resistance to desmopressin. *An. Pediatr. (Barc)*. **63**, 475–479 (2005).
43. Mahmoodzadeh, H. *et al.* Idiopathic hypercalciuria in children with vesico ureteral reflux and recurrent urinary tract infection. *Urol. J.* **7**, 95–8 (2010).

44. Stojanovic, V. D., Milosevic, B. O., Djapic, M. B. & Bubalo, J. D. Idiopathic hypercalciuria associated with urinary tract infection in children. *Pediatr. Nephrol.* **22**, 1291–1295 (2007).
45. Lopez, M. M., Castillo, L. A., Chavez, J. B. & Ramones, C. Hypercalciuria and recurrent urinary tract infection in Venezuelan children. *Pediatr. Nephrol.* **13**, 433–437 (1999).
46. Yousefi, P., Firouzifar, M. & Cyrus, A. Does hydrochlorothiazide prevent recurrent urinary tract infection in children with idiopathic hypercalciuria? *J. Pediatr. Urol.* (2012).
47. Vachvanichsanong, P., Malagon, M. & Moore, E. S. Recurrent abdominal and flank pain in children with idiopathic hypercalciuria. *Acta Paediatr.* **90**, 643–8 (2001).
48. Polito, C., Cioce, F., Signoriello, G. & La Manna, A. Central/diffuse abdominal perception of urological pain in children. *Acta Paediatr.* **95**, 82–85 (2006).
49. Tabel, Y. & Mir, S. The long-term outcomes of idiopathic hypercalciuria in children. *J. Pediatr. Urol.* **2**, 453–8 (2006).
50. Moore, E. S., Coe, F. L., McMann, B. J. & Favus, M. J. Idiopathic hypercalciuria in children: prevalence and metabolic characteristics. *J. Pediatr.* **92**, 906–910 (1978).
51. De Santo, N. G. *et al.* Population based data on urinary excretion of calcium, magnesium, oxalate, phosphate and uric acid in children from Cimitile (southern Italy). *Pediatr. Nephrol.* **6**, 149–157 (1992).
52. Manz, F., Kehrt, R., Lausen, B. & Merkel, A. Urinary calcium excretion in healthy children and adolescents. *Pediatr. Nephrol.* **13**, 894–899 (1999).
53. Curhan, G. C., Willett, W. C., Speizer, F. E. & Stampfer, M. J. Twenty-four-hour urine chemistries and the risk of kidney stones among women and men. *Kidney Int.* **59**, 2290–8 (2001).

54. Rodrigo Orozco, B. & Carolina Camaggi, M. Evaluación metabólica y nutricional en litiasis renal. *Rev. Médica Clínica Las Condes* **21**, 567–577 (2010).
55. So, N. P., Osorio, A. V, Simon, S. D. & Alon, U. S. Normal urinary calcium/creatinine ratios in African-American and Caucasian children. *Pediatr. Nephrol.* **16**, 133–139 (2001).
56. Melian, J. S., Garcia Nieto, V. & Sosa, A. M. Inheritance and prevalence of hypercalciuria in the children from the island of La Gomera. *Nefrología* **20**, 510–516 (2000).
57. O'Brien, K. O., Abrams, S. A., Stuff, J. E., Liang, L. K. & Welch, T. R. Variables related to urinary calcium excretion in young girls. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **23**, 8–12 (1996).
58. Erol, I. *et al.* Reference values for urinary calcium, sodium and potassium in healthy newborns, infants and children. *Turk. J. Pediatr.* **51**, 6–13 (2009).
59. NORDIN, B. E. Assessment of calcium excretion from the urinary calcium/creatinine ratio. *Lancet* **2**, 368–371 (1959).
60. Butani, L. & Kalia, A. Idiopathic hypercalciuria in children--how valid are the existing diagnostic criteria? *Pediatr. Nephrol.* **19**, 577–582 (2004).
61. Vachvanichsanong, P., Lebel, L. & Moore, E. S. Urinary calcium excretion in healthy Thai children. *Pediatr. Nephrol.* **14**, 847–850 (2000).
62. Matos, V. *et al.* Urinary phosphate/creatinine, calcium/creatinine, and magnesium/creatinine ratios in a healthy pediatric population. *J. Pediatr.* **131**, 252–7 (1997).
63. Nordin, B. E., Need, A. G., Morris, H. A. & Horowitz, M. The nature and significance of the relationship between urinary sodium and urinary calcium in women. *J. Nutr.* **123**, 1615–22 (1993).

64. FAO & WHO. in *FAO/WHO expert consultation on human vitamin and mineral requirements* 181–194 (2001).
65. Gil, A.; Mañas, M., Martínez de Victoria, E. (2010). Ingestas dietéticas de referencia, objetivos nutricionales y guías. En libro: *Tratado de nutrición*. 2ª Ed. Tomo III Nutrición humana en el estado de salud. Madrid. Ed.Médica Panamericana SA.
66. *Principles and Practice of Pediatric Nephrology*. (JP Medical Ltd, 2013).
67. Frassetto, L. A., Morris, R. C. & Sebastian, A. Dietary sodium chloride intake independently predicts the degree of hyperchloremic metabolic acidosis in healthy humans consuming a net acid-producing diet. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* **293**, F521–5 (2007).
68. Tasca, A., Dalle Carbonare, L., Nigro, F. & Giannini, S. Bone disease in patients with primary hypercalciuria and calcium nephrolithiasis. *Urology* **74**, 22–27 (2009).
69. Zemel, M. Calcium utilization: effect of varying level and source of dietary protein. *Am J Clin Nutr* **48**, 880–883 (1988).
70. Hegsted, M., Schuette, S. A., Zemel, M. B. & Linkswiler, H. M. Urinary calcium and calcium balance in young men as affected by level of protein and phosphorus intake. *J. Nutr.* **111**, 553–62 (1981).
71. Kerstetter, J. E., O'Brien, K. O. & Insogna, K. L. Low protein intake: the impact on calcium and bone homeostasis in humans. *J. Nutr.* **133**, 855S–861S (2003).
72. Jakobsson, B., Celsi, G., Lindblad, B. S. & Aperia, A. Influence of different protein intake on renal growth in young rats. *Acta Paediatr. Scand.* **76**, 293–299 (1987).
73. Hammond, K. A. & Janes, D. N. The effects of increased protein intake on kidney size and function. *J. Exp. Biol.* **201**, 2081–2090 (1998).

74. Chan, A. Y., Cheng, M. L., Keil, L. C. & Myers, B. D. Functional response of healthy and diseased glomeruli to a large, protein-rich meal. *J. Clin. Invest.* **81**, 245–254 (1988).
75. Escribano, J. *et al.* Increased protein intake augments kidney volume and function in healthy infants. *Kidney Int.* **79**, 783–790 (2011).
76. Schmidt, I. M. *et al.* Increased kidney growth in formula-fed versus breast-fed healthy infants. *Pediatr. Nephrol.* **19**, 1137–1144 (2004).
77. Heinig, M. J., Nommsen, L. A., Peerson, J. M., Lonnerdal, B. & Dewey, K. G. Energy and protein intakes of breast-fed and formula-fed infants during the first year of life and their association with growth velocity: the DARLING Study. *Am. J. Clin. Nutr.* **58**, 152–161 (1993).
78. Murray, B. M., Campos, S. P., Schoenl, M. & MacGillivray, M. H. Effect of dietary protein intake on renal growth: possible role of insulin-like growth factor-I. *J. Lab. Clin. Med.* **122**, 677–685 (1993).
79. Luque, V. *et al.* Does insulin-like growth factor-1 mediate protein-induced kidney growth in infants? A secondary analysis from a randomized controlled trial. *Pediatr. Res.* **74**, 223–9 (2013).
80. Lentine, K. & Wrone, E. M. New insights into protein intake and progression of renal disease. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* **13**, 333–336 (2004).
81. Schmidt, I. M. *et al.* Kidney growth in 717 healthy children aged 0–18 months: a longitudinal cohort study. *Pediatr. Nephrol.* **19**, 992–1003 (2004).
82. Sönmez, F., Akçanal, B., Altincik, A. & Yenisey, C. Urinary calcium excretion in healthy Turkish children. *Int. Urol. Nephrol.* **39**, 917–22 (2007).

83. Escribano, J., Balaguer, A., Pagone, F., Feliu, A. & Roque I Figuls, M. Pharmacological interventions for preventing complications in idiopathic hypercalciuria. *Cochrane Database Syst. Rev.* **(1):CD0047**, CD004754 (2009).
84. Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. *Am. J. Med.* **94**, 646–650 (1993).
85. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of a WHO Study Group. *World Health Organ. Tech. Rep. Ser.* **843**, 1–129 (1994).
86. Lewiecki, E. M. *et al.* Official positions of the international society for clinical densitometry. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **89**, 3651–3655 (2004).
87. Gordon, C. M. *et al.* Dual energy X-ray absorptiometry interpretation and reporting in children and adolescents: the 2007 ISCD Pediatric Official Positions. *J. Clin. Densitom.* **11**, 43–58 (2008).
88. Hernandez, C. J., Beaupre, G. S. & Carter, D. R. A theoretical analysis of the relative influences of peak BMD, age-related bone loss and menopause on the development of osteoporosis. *Osteoporos. Int.* **14**, 843–847 (2003).
89. Moreira Guimarães Penido, M. G., de Sousa Tavares, M., Campos Linhares, M., Silva Barbosa, A. C. & Cunha, M. Longitudinal study of bone mineral density in children with idiopathic hypercalciuria. *Pediatr. Nephrol.* **27**, 123–130 (2012).
90. Cadogan, J., Eastell, R., Jones, N. & Barker, M. E. Milk intake and bone mineral acquisition in adolescent girls: randomised, controlled intervention trial. *BMJ* **315**, 1255–1260 (1997).
91. Urano, T. & Inoue, S. Genetics of osteoporosis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **452**, 287–293 (2014).
92. Walker, M. D., Novotny, R., Bilezikian, J. P. & Weaver, C. M. Race and diet interactions in the acquisition, maintenance, and loss of bone. *J. Nutr.* **138**, 1256S–60S (2008).

93. Shen, H. & Xie, Y.-M. [Investigate progress on risk factors and risk assessment of osteoporotic fractures]. *Zhongguo Gu Shang* **27**, 261–5 (2014).
94. Manzoni, P. *et al.* Influence of body composition on bone mineral content in children and adolescents. *Am. J. Clin. Nutr.* **64**, 603–7 (1996).
95. Bachrach, L. K., Guido, D., Katzman, D., Litt, I. F. & Marcus, R. Decreased bone density in adolescent girls with anorexia nervosa. *Pediatrics* **86**, 440–7 (1990).
96. Del Rio, L. *et al.* Bone mineral density of the lumbar spine in white Mediterranean Spanish children and adolescents: changes related to age, sex, and puberty. *Pediatr. Res.* **35**, 362–6 (1994).
97. Correa Rodríguez, M., Rueda Medina, B., González Jiménez, E., Navarro Pérez, C. F. & Schmidt-RioValle, J. [The levels of bone mineralization are influenced by body composition in children and adolescents]. *Nutr. Hosp.* **30**, 763–8 (2014).
98. Bonjour, J. P., Schurch, M. A. & Rizzoli, R. Nutritional aspects of hip fractures. *Bone* **18**, 139S–144S (1996).
99. Bonjour, J. P. Dietary protein: an essential nutrient for bone health. *J. Am. Coll. Nutr.* **24**, 526S–36S (2005).
100. Jesudason, D. & Clifton, P. The interaction between dietary protein and bone health. *J. Bone Miner. Metab.* **29**, 1–14 (2011).
101. Ruiz, J. C., Mandel, C. & Garabedian, M. Influence of spontaneous calcium intake and physical exercise on the vertebral and femoral bone mineral density of children and adolescents. *J. Bone Miner. Res.* **10**, 675–82 (1995).
102. Sandler, R. B. *et al.* Postmenopausal bone density and milk consumption in childhood and adolescence. *Am. J. Clin. Nutr.* **42**, 270–4 (1985).

103. Nakagi, Y. *et al.* Association between lifestyle habits and bone mineral density in Japanese juveniles. *Environ. Health Prev. Med.* **15**, 222–8 (2010).
104. Arita, S. *et al.* Human parathyroid hormone (1-34) increases mass and structure of the cortical shell, with resultant increase in lumbar bone strength, in ovariectomized rats. *J. Bone Miner. Metab.* **22**, 530–40 (2004).
105. Ito, S., Ishida, H., Uenishi, K., Murakami, K. & Sasaki, S. The relationship between habitual dietary phosphorus and calcium intake, and bone mineral density in young Japanese women: a cross-sectional study. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* **20**, 411–7 (2011).
106. Prentice, A. Vitamin D deficiency: a global perspective. *Nutr. Rev.* **66**, S153–64 (2008).
107. Holick, M. F. & Chen, T. C. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *Am J Clin Nutr* **87**, 1080S–1086 (2008).
108. Shin, Y. H., Shin, H. J. & Lee, Y.-J. Vitamin D status and childhood health. *Korean J. Pediatr.* **56**, 417–23 (2013).
109. Gennari, C. Calcium and vitamin D nutrition and bone disease of the elderly. *Public Health Nutr.* **4**, 547–59 (2001).
110. Rizzoli, R., Bianchi, M. L., Garabedian, M., McKay, H. A. & Moreno, L. A. Maximizing bone mineral mass gain during growth for the prevention of fractures in the adolescents and the elderly. *Bone* **46**, 294–305 (2010).
111. Zhang, P., Hamamura, K. & Yokota, H. A brief review of bone adaptation to unloading. *Genomics. Proteomics Bioinformatics* **6**, 4–7 (2008).
112. Khan, K. *et al.* Does childhood and adolescence provide a unique opportunity for exercise to strengthen the skeleton? *J. Sci. Med. Sport* **3**, 150–64 (2000).

113. Bielemann, R. M., Martinez-Mesa, J. & Gigante, D. P. Physical activity during life course and bone mass: a systematic review of methods and findings from cohort studies with young adults. *BMC Musculoskelet. Disord.* **14**, 77 (2013).
114. Zanker, C. L. *et al.* Differences in bone density, body composition, physical activity, and diet between child gymnasts and untrained children 7-8 years of age. *J. Bone Miner. Res.* **18**, 1043–50 (2003).
115. MacKelvie, K. J., McKay, H. A., Petit, M. A., Moran, O. & Khan, K. M. Bone mineral response to a 7-month randomized controlled, school-based jumping intervention in 121 prepubertal boys: associations with ethnicity and body mass index. *J. Bone Miner. Res.* **17**, 834–44 (2002).
116. Frisch, R. E. *et al.* Delayed menarche and amenorrhea of college athletes in relation to age of onset of training. *JAMA* **246**, 1559–63 (1981).
117. Campos, L. M. A., Liphaut, B. L., Silva, C. A. A. & Pereira, R. M. R. Osteoporose na infância e na adolescência. *J. Pediatr. (Rio. J.)* **79**, 481–488 (2003).
118. Soyka, L. A., Fairfield, W. P. & Klibanski, A. Clinical review 117: Hormonal determinants and disorders of peak bone mass in children. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **85**, 3951–63 (2000).
119. Morishima, A., Grumbach, M. M., Simpson, E. R., Fisher, C. & Qin, K. Aromatase deficiency in male and female siblings caused by a novel mutation and the physiological role of estrogens. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **80**, 3689–98 (1995).
120. Moreira-Andrés, M. N., Cañizo, F. J., de la Cruz, F. J., Gómez-de la Cámara, A. & Hawkins, F. G. Bone mineral status in prepubertal children with constitutional delay of growth and puberty. *Eur. J. Endocrinol.* **139**, 271–5 (1998).
121. Finkelstein, J. S., Neer, R. M., Biller, B. M., Crawford, J. D. & Klibanski, A. Osteopenia in men with a history of delayed puberty. *N. Engl. J. Med.* **326**, 600–4 (1992).

122. Panday, K., Gona, A. & Humphrey, M. B. Medication-induced osteoporosis: screening and treatment strategies. *Ther. Adv. Musculoskelet. Dis.* **6**, 185–202 (2014).
123. Canalis, E., Mazziotti, G., Giustina, A. & Bilezikian, J. P. Glucocorticoid-induced osteoporosis: pathophysiology and therapy. *Osteoporos. Int.* **18**, 1319–28 (2007).
124. Perrone HC, Marone MMS, Bainco AC, Toporovski J, Malvestiti LF, S. N. Bone mineral density in hypercalciuric children: a 5 year follow-up. *Pediatr. Nephrol.* **9**, C121 (1995).
125. Polito, C., Iolascon, G., Nappi, B., Andreoli, S. & La Manna, A. Growth and bone mineral density in long-lasting idiopathic hypercalciuria. *Pediatr. Nephrol.* **18**, 545–547 (2003).
126. Malluche, H. H., Tschoepe, W., Ritz, E., Meyer-Sabellek, W. & Massry, S. G. Abnormal bone histology in idiopathic hypercalciuria. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **50**, 654–658 (1980).
127. Heller, H. J., Zerwekh, J. E., Gottschalk, F. A. & Pak, C. Y. Reduced bone formation and relatively increased bone resorption in absorptive hypercalciuria. *Kidney Int.* **71**, 808–815 (2007).
128. Bordier, P., Ryckewart, A., Gueris, J. & Rasmussen, H. On the pathogenesis of so-called idiopathic hypercalciuria. *Am. J. Med.* **63**, 398–409 (1977).
129. Zerwekh, J. E. Bone disease and hypercalciuria in children. *Pediatr. Nephrol.* **25**, 395–401 (2010).
130. Garcia-Nieto, V., Navarro, J. F., Monge, M. & Garcia-Rodriguez, V. E. Bone mineral density in girls and their mothers with idiopathic hypercalciuria. *Nephron. Clinical Pract.* **94**, c89–93 (2003).
131. Freundlich, M., Alonzo, E., Bellorin-Font, E. & Weisinger, J. R. Reduced bone mass in children with idiopathic hypercalciuria and in their asymptomatic mothers. *Nephrol. Dial. Transplant* **17**, 1396–1401 (2002).

132. Perrone HC, Lewin S, Langman CB, Toporovski J, Marone M, S. N. Bone effects of the treatment of children with absorptive hypercalciuria. *Pediatr. Nephrol.* **6**, C115 (1995).
133. Hernández A, Escribano J, Salvado O, P. F. Osteopenia en niños con hipercalciuria idiopática persistente. *Nefrología* **27**, C60 (2007).
134. Garcia-Nieto, V., Monge-Zamorano, M., Gonzalez-Garcia, M. & Luis-Yanes, M. I. Effect of thiazides on bone mineral density in children with idiopathic hypercalciuria. *Pediatr. Nephrol.* **27**, 261–268 (2012).
135. Sakhaee, K., Maalouf, N. M., Kumar, R., Pasch, A. & Moe, O. W. Nephrolithiasis-associated bone disease: pathogenesis and treatment options. *Kidney Int.* **79**, 393–403 (2011).
136. Koletzko, B. *et al.* Protein intake in the first year of life: a risk factor for later obesity? The E.U. childhood obesity project. *Adv. Exp. Med. Biol.* **569**, 69–79 (2005).
137. European Commission. Commission Directive 91/321/EEC of 14 May 1991 on infant and follow-on formulae. Official Journal of the European Commission 1991;0035–49.
138. Koletzko, B. *et al.* Lower protein in infant formula is associated with lower weight up to age 2 y: a randomized clinical trial. *Am. J. Clin. Nutr.* **89**, 1836–1845 (2009).
139. OMS Obesidad y sobrepeso. at <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/>
140. WHO Multicentre Growth Reference Study Group. WHO Child Growth Standards: Head circumference-for-age, arm circumference-for-age, triceps skinfold-for-age and subscapular skinfold-for-age: Methods and development. Geneva: World Health Organization, 2007.
141. WHO Child Growth Standards based on length/height, weight and age. *Acta Paediatr. Suppl.* **450**, 76–85 (2006).

142. WHO Multicentre Growth Reference Study Group. WHO Anthro software for PC. 2009.
143. Dehne, L. I., Klemm, C., Henseler, G. & Hermann-Kunz, E. The German Food Code and Nutrient Data Base (BLS II.2). *Eur. J. Epidemiol.* **15**, 355–359 (1999).
144. *Centre d'Ensenyament Superior de Nutrició i Dietètica. Tablas de composición de alimentos. 2002. Barcelona, Edicions Universitat de Barcelona.*
145. *Mataix J, Mañas M, Llopis J, Martínez de Victoria E, Sánchez JJ, Borregon A. Tabla de Composición de Alimentos Españoles. 4 ed. Granada: Editorial de la Universidad de Granada; 2003.*
146. *van Havere R, Muls E, Seeuws C. Table belge de composition des aliments. 3 ed. Brussels: NUBEL v.a.w.; 1999.*
147. *Institut Paul Lambin. Table de Composition des Aliments. 1 ed1 Brussels: Institut Paul Lambin; 1998.*
148. Kunachowicz H, Nadolna I, Przybyla B, Iwanow K. Tabele wartosci odzywczej produktow spozywczych (Food composition tables). Warsaw: Instytut Zywnoasci i Zywienia (National Food and Nutrition Institute); 1998.
149. Frey, J. *et al.* [Clinical value of urinary biochemical parameters]. *Ann. Biol. Clin. (Paris)*. **59**, 13–25
150. Polito, C., Signoriello, G., Andreoli, S. & La Manna, A. Urinary urea excretion in idiopathic hypercalciuria of children. *J. Pediatr. Urol.* **2**, 419–423 (2006).
151. Janz, K. F., Lutuchy, E. M., Wenthe, P. & Levy, S. M. Measuring activity in children and adolescents using self-report: PAQ-C and PAQ-A. *Med. Sci. Sports Exerc.* **40**, 767–72 (2008).
152. *Kowalski, K., Crocker, P., & Donen R. The Physical Activity Questionnaire for Older Children (PAQ-C) and Adolescents (PAQ-A) Manual. College of Kinesiology, University of Saskatchewan.*

153. Walcker W, Barden HS, GE Lunar Corporation, Madison, WI USA. Padiatric Reference Data for Male and Female Total Body and Spine BMD and BMC. Presented at: International Society of Clinical Densitometry March 13-17, 2001 Dallas, TX.
154. Katzman, D. K., Bachrach, L. K., Carter, D. R. & Marcus, R. Clinical and anthropometric correlates of bone mineral acquisition in healthy adolescent girls. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **73**, 1332–1339 (1991).
155. Carter, D. R., Bouxsein, M. L. & Marcus, R. New approaches for interpreting projected bone densitometry data. *J. Bone Miner. Res.* **7**, 137–145 (1992).
156. Bianchi, M. L. Osteoporosis in children and adolescents. *Bone* **41**, 486–495 (2007).
157. Bianchi, M. L. *et al.* Official positions of the International Society for Clinical Densitometry (ISCD) on DXA evaluation in children and adolescents. *Pediatr. Nephrol.* **25**, 37–47 (2010).
158. Stapleton, F. B. Hematuria associated with hypercalciuria and hyperuricosuria: a practical approach. *Pediatr. Nephrol.* **8**, 756–61 (1994).
159. García Nieto V, S. R. M. in *Nefrología Pediátrica* (ed. B, R. I.) 39–49 (2006).
160. Schwartz, G. J., Brion, L. P. & Spitzer, A. The use of plasma creatinine concentration for estimating glomerular filtration rate in infants, children, and adolescents. *Pediatr. Clin. North Am.* **34**, 571–90 (1987).
161. Stapleton, F. B., Noe, H. N., Jerkins, G. & Roy 3rd, S. Urinary excretion of calcium following an oral calcium loading test in healthy children. *Pediatrics* **69**, 594–597 (1982).
162. Rodríguez LM, Lapeña S, M. J. Manejo de la hipercalciuria idiopática. *Bol Pediatr* **37**, 207–210 (1997).

163. Nakamura, M. & Itoh, K. Renal length changes with position. *Pediatr. Radiol.* **28**, 197 (1998).
164. Dinkel, E. *et al.* Kidney size in childhood. Sonographical growth charts for kidney length and volume. *Pediatr. Radiol.* **15**, 38–43 (1985).
165. Hess, B., Ackermann, D., Essig, M., Takkinen, R. & Jaeger, P. Renal mass and serum calcitriol in male idiopathic calcium renal stone formers: role of protein intake. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **80**, 1916–1921 (1995).
166. Koyun, M. *et al.* Screening for hypercalciuria in schoolchildren: what should be the criteria for diagnosis? *Pediatr. Nephrol.* **22**, 1297–1301 (2007).
167. Garcia-Nieto, V., Siverio, B., Monge, M., Toledo, C. & Molini, N. Urinary calcium excretion in children with vesicoureteral reflux. *Nephrol. Dial. Transplant* **18**, 507–511 (2003).
168. Srivastava, T. & Schwaderer, A. Diagnosis and management of hypercalciuria in children. *Curr. Opin. Pediatr.* **21**, 214–9 (2009).
169. Esbjörner, E. & Jones, I. L. Urinary calcium excretion in Swedish children. *Acta Paediatr.* **84**, 156–9 (1995).
170. Reusz, G. S. *et al.* Urinary calcium and oxalate excretion in children. *Pediatr. Nephrol.* **9**, 39–44 (1995).
171. Leonetti, F., Dussol, B., Berthezene, P., Thirion, X. & Berland, Y. Dietary and urinary risk factors for stones in idiopathic calcium stone formers compared with healthy subjects. *Nephrol. Dial. Transplant* **13**, 617–22 (1998).
172. Taylor, E. N., Fung, T. T. & Curhan, G. C. DASH-style diet associates with reduced risk for kidney stones. *J. Am. Soc. Nephrol.* **20**, 2253–9 (2009).
173. Davies, J. H., Evans, B. A. & Gregory, J. W. Bone mass acquisition in healthy children. *Arch. Dis. Child.* **90**, 373–378 (2005).

174. Winzenberg, T., Shaw, K., Fryer, J. & Jones, G. Effects of calcium supplementation on bone density in healthy children: meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ* **333**, 775 (2006).
175. Soft drinks in schools. *Pediatrics* **113**, 152–4 (2004).
176. De Laet, C. *et al.* Body mass index as a predictor of fracture risk: a meta-analysis. *Osteoporos. Int.* **16**, 1330–8 (2005).
177. Roy, D. K. *et al.* Determinants of incident vertebral fracture in men and women: results from the European Prospective Osteoporosis Study (EPOS). *Osteoporos. Int.* **14**, 19–26 (2003).
178. Ay, L. *et al.* Foetal and postnatal growth and bone mass at 6 months: the Generation R Study. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*. **74**, 181–190 (2011).
179. Garcia-Nieto, V., Navarro, J. F. & Ferrandez, C. Bone loss in children with idiopathic hypercalciuria. *Nephron* **78**, 341–342 (1998).
180. Hillman, L. S. *et al.* Calciuria and aminoaciduria in very low birth weight infants fed a high-mineral premature formula with varying levels of protein. *J. Pediatr.* **125**, 288–94 (1994).
181. Fomon SJ, N. S. in *Nutrition of Normal Infants* 192–218 (St Louis: Mosby-Year Book, Inc, 1993).
182. Yamawaki, N. *et al.* Macronutrient, mineral and trace element composition of breast milk from Japanese women. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **19**, 171–81 (2005).
183. Góes, H. C. A., Torres, A. G., Donangelo, C. M. & Trugo, N. M. F. Nutrient composition of banked human milk in Brazil and influence of processing on zinc distribution in milk fractions. *Nutrition* **18**, 590–4
184. Nommsen, L., Lovelady, C., Heinig, M., Lonnerdal, B. & Dewey, K. Determinants of energy, protein, lipid, and lactose concentrations in human milk during the first 12 mo of lactation: the DARLING Study. *Am J Clin Nutr* **53**, 457–465 (1991).

185. Abrams, S. A. Calcium absorption in infants and small children: methods of determination and recent findings. *Nutrients* **2**, 474–80 (2010).
186. EFSA Panel on Dietetic Products, N. and A. (NDA). Scientific Opinion on the essential composition of infant and follow-on formulae. *EFSA J.* 2014 **12**, (2014).

ANEXOS

ANEXO 1. INFORMACIÓN Y CONSENTIMIENTO
INFORMADO DE PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO

INFORMACIÓN PARA LOS PADRES

Título: Evaluación del desarrollo cognitivo de los niños del Proyecto Childhood Obesity Project.

Acrónimo: NutriMENTHE

Investigador principal: Dr. Ricardo Closa./ Dr. Joaquín Escribano

Estimados Sr./Sra., nos dirigimos a usted en calidad de un/a padre/madre de un niño que participa en el estudio Childhood Obesity Project. Nuestro objetivo es solicitar su consentimiento para participar en el seguimiento de su hijo/a hasta la edad **de 8 años**.

Su participación en el estudio es totalmente **voluntaria**; pueden decidir no participar o cambiar su decisión y denegar su consentimiento en cualquier momento, hecho que no afectará ni perjudicará la relación con su médico ni su atención.

El estudio no supone **ningún riesgo** que no sea el de la determinación de la composición corporal y densidad de masa ósea mediante el DEXA (que se hará a los 7 años) y de una extracción de sangre (que se hará si lo desea a los 8 años). Todas las determinaciones se realizarán por personal sanitario calificado. De todas formas, puede seguir participando en el estudio aunque no desea realizar alguna de las determinaciones propuestas.

La técnica de DEXA es una técnica no invasiva, sencilla y efectiva que es realiza por rayos-X. La dosis de radiación es muy baja y equivale a menos de un 10% de la radiación que se recibe con una radiografía de tórax o a menos radiación de la que se absorbe durante un día de forma natural.

Las muestras de sangre, orina y heces obtenidas se codificarán con un número de forma que no aparezca ni su nombre ni su número de historia. Solo su médico de estudio o personas autorizadas por él podrán relacionar sus muestras con ustedes. Una vez codificadas, y bajo las mismas garantías de confidencialidad, se procesarán y enviarán: a) a un laboratorio central del estudio en Polonia para que se lleven a cabo determinaciones bioquímicas y; b) un laboratorio central en Alemania para se realicen determinaciones bioquímicas y microbiológicas. Todas estas determinaciones estarán relacionadas con los objetivos planteados por el estudio y ningún otro. No se prevé que haya muestra sobrante una vez finalizado el estudio Childhood Obesity Project pero, si así fuese, las muestras sobrantes serían conservadas durante un máximo de 25 años y posteriormente serían destruidas.

Todos los archivos correspondientes a los resultados de las determinaciones realizadas serán codificados de igual forma que las muestras biológicas con el fin de preservar la identidad.

Objetivo del estudio: comprobar si existe alguna influencia de la ingesta precoz de diferentes cantidades de proteínas de la leche en el periodo de lactancia, sobre el desarrollo de obesidad, así como sobre el desarrollo cognitivo. Adicionalmente también querríamos valorar la relación entre la excreción de calcio en orina y el riesgo de padecer osteopenia (disminución de la densidad ósea). Y además validaremos algunas de las metodologías utilizadas hasta ahora en el seguimiento de los niños del estudio Childhood Obesity Project.

Metodología: la información necesaria para esta parte del estudio, se obtendrá a través de cuestionarios completados por padres (o persona a cargo del niño o niña) y por exámenes (siempre voluntarios) realizados al niño/a como son: medidas antropométricas, análisis de orina y heces, densitometría ósea y ecocardiografía, análisis de sangre, valoración del desarrollo cognitivo mediante tests en que participen los niños, valoración de la actividad física mediante ArmBand. También se le pedirá a los papás que respondan a un test sobre el comportamiento de su hijo/a y dos tests sobre su propio desarrollo cognitivo (para analizar como influye sobre su hijo/a).

Confidencialidad: los investigadores le garantizamos que todos los datos y resultados obtenidos serán absolutamente confidenciales y que se utilizarán los mecanismos necesarios para la cumplimiento de la “Ley orgánica 15/1999, del 13 de Diciembre” para la protección de datos personales, y la “Ley 14/2007 de Investigación Biomédica“. Los responsables de sus datos y muestras serán los integrantes del equipo de la Unitat de Pediatria, Facultat de Medicina, Universitat Rovira I Virgili. El equipo de investigación garantiza su confidencialidad y el hecho de que las muestras y resultados serán utilizados únicamente para las finalidades descritas y ninguna otra. Además, si usted lo decidiese podría retirar su consentimiento solo comunicándolo a los investigadores. En este caso no se incorporarían más datos suyos a la base de datos y si lo desease, podría también solicitar por escrito la destrucción de sus muestras biológicas.

Rogamos vean a continuación el plan del estudio, paso a paso, y hagan todas las preguntas y comentarios que deseen!

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Sr./a..... informa al padre/madre Sr./Sra..... sobre el seguimiento de los niños/as del estudio Childhood Obesity Project hasta los 8 años de edad.

El equipo de investigación declara que:

El objetivo de este proyecto es comprobar si existe alguna influencia de la ingesta precoz de diferentes cantidades de proteínas de la leche en el período de lactancia, sobre el desarrollo de obesidad y sobre el su desarrollo cognitivo.

El equipo de investigación garantiza la confidencialidad de la identidad de los participantes y igualmente que las muestras de sangre y los resultados que se deriven serán utilizados para los objetivos descritos y ningún otro.

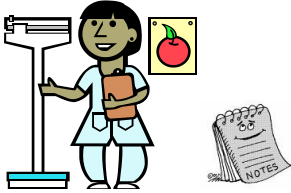

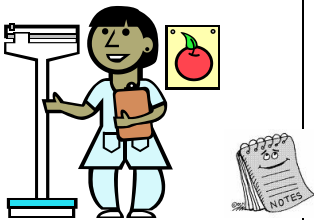

La madre / el padre declara:

- Me ha sido entregada la hoja de información para padres, y he sido informado de la naturaleza del estudio, que se resume en la presente hoja.
- He podido hacer preguntas para aclarar mis dudas.
- Se garantiza que la atención sanitaria del niño/a no se verá influenciada por mi decisión.
- Me puedo retirar del estudio en cualquier momento.
- Bajo estas condiciones, decido participar en el seguimiento del estudio.

	Fecha	Firma
Investigador informante		
Madre o padre		

PLAN DE ESTUDIO

NutriMENTHE

Descripción	EDAD	TAREAS
	7 años	<p>Visita al hospital:</p> <p>Es realizará la valoración del crecimiento y composición corporal por parte de la dietista (antropometría, bioimpedancia). También se realizará una historia médica y se rellenarán unos cuestionarios sobre:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Actividad física. - Hábitos alimentarios y comportamiento: FFQ, CFQ y figuras. <p>Se recogerá una muestra de orina y heces.</p> <p>Se citará para hacer una ecocardiografía y análisis de la composición corporal i densidad ósea mediante DEXA.</p>
	7.5 años	<p>Únicamente será necesario rellenar un test sobre “hábitos alimentarios y comportamiento (EDI-2)” des de casa (i enviar-lo) o fer-lo al propio centre de estudio, como ustedes deseen.</p>
	8 años	<p>Visita al hospital:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Es realizará la valoración del crecimiento y composición corporal por parte de la dietista (antropometría, bioimpedancia). También se realizará una historia médica y se rellenarán unos cuestionarios sobre: <ul style="list-style-type: none"> - Actividad física. - Hábitos alimentarios y comportamiento: FFQ, CFQ y figuras. 2. Se le pedirá que apunte durante 3 días lo que haya comido su hijo/a 3. Si lo desea, podrá valorar el gasto de su hijo/a mediante el aparato portátil Armband. 4. Se le pedirá a su hijo/a que realice unos tests para la valoración del desarrollo cognitivo con una psicóloga 5. Se le pedirá que responda 1 test sobre comportamiento de su hijo/a y 2 sobre usted mismo/a. 6. Además, quien lo desee podrá hacer una analítica a su hijo/a
	8.5 años	<p>El equipo del proyecto le hará entrega de un dossier de resultados de las evaluaciones realizadas a su hijo/a.</p>

**ANEXO 2. INFORMACIÓN ESPECÍFICA PARA LA
VISITA, EN QUE SE REALIZABA LA DENSITOMETRÍA Y
LA RECOGIDA DE ORINA.**

INFORMACIÓ DENSITOMERIA ÒSSIA

Durant la infància i l'adolescència es produeix una transformació de l'esquelet, coneguda com ossificació. Durant aquesta etapa els ossos creixen i es tornen més pesats. El mètode diagnòstic que permet mesurar el grau d'ossificació és la DENSITOMETRIA ÒSSIA.

Aquest estudi es realitza mitjançant **dosis baixes de radiació** en un aparell anomenat densitòmetre.



- No precisa de cap preparació prèvia
- El pacient ha de romandre ajagut i quiet en una camilla durant 10 o 15 minuts.
- La determinació no causa cap molèstia i no té cap risc pel pacient.
- Es pot realitzar vida normal tan abans com després de la prova.
- El resultat no és immediat ja que cal fer una anàlisi informàtica de les dades obtingudes.

Per altra banda, l'equip del projecte analitzarà l'eliminació de calci a través de la orina per tal de valorar la relació que pot haver-hi entre aquesta i la ossificació del seu/va fill/a.

Per això, caldrà que reculli la segona orina del matí (no la primera), després d'haver ingerit una dosi mínima de làctic com:

- 1 tassa de llet de vaca sencera (200 ml)
- 2 iogurts natural o de fruita (2 x 125g)
- 1 got de batut de cacau (200 ml)
- 2 talls de formatge tipus tranxete (2 x 20g)
- 2 petits suisse maxi (2 x 100g)



ANEXO 3. PROTOCOLO DE RECOGIDA DE ORINA

	EARLY NUTRITION PROGRAMMING – LONG TERM FOLLOW UP OF EFFICACY AND SAFETY TRIALS		TB4/Visita 14
EDAT DEL NEN 7 anys	Inicis del nen/a Screening Number Randomisation Number	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	DATA: <input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/> dia mes any Investigador: <input type="text"/>

Recollida: mostres orina



Mostra 1

Data de la mostra a casa: / /

Data de recollida hospital: / /

La mostra s'ha conservat refrigerada a casa ?

Estat: refrigerat temperatura ambient

SI NO

Número de tubs:

Valoració ingesta de calci prèvia a la recollida d'orina (1)

Almenys 1 hora abans de recollir la mostra d'orina, el nen/a ha pres : (almenys una de les següents)

- | | |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> 1 tassa de llet de vaca sencera (200 ml) | <input type="checkbox"/> 2 talls de formatge tipus tranxete (2 x 20g) |
| <input type="checkbox"/> 2 iogurt natural o de fruita (2 x 125g) | <input type="checkbox"/> 2 petits suisse maxi (2 x 100g) |
| <input type="checkbox"/> 1 got de batut de cacau (200 ml) | <input type="checkbox"/> ALTRES: _____ |

Resultats tira reactiva

SANG

LEUCOCITS

Mostra 2

Data de la mostra a casa: / /

Data de recollida hospital: / /

La mostra s'ha conservat refrigerada a casa ?

Estat: refrigerat temperatura ambient

SI NO

Número de tubs:

Valoració ingesta de calci prèvia a la recollida d'orina (2)

Almenys 1 hora abans de recollir la mostra d'orina, el nen/a ha pres : (almenys una de les següents)

- | | |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> 1 tassa de llet de vaca sencera (200 ml) | <input type="checkbox"/> 2 talls de formatge tipus tranxete (2 x 20g) |
| <input type="checkbox"/> 2 iogurt natural o de fruita (2 x 125g) | <input type="checkbox"/> 2 petits suisse maxi (2 x 100g) |
| <input type="checkbox"/> 1 got de batut de cacau (200 ml) | <input type="checkbox"/> ALTRES: _____ |

Resultats tira reactiva

SANG

LEUCOCITS

Història clínica familiar de litiasi renal

Algun membre de la família (mare, pare, avis, tiets) ha tingut litiasi renal (pedres, arenilles ?)

EARLY NUTRITION PROGRAMMING – LONG TERM FOLLOW UP OF EFFICACY AND SAFETY TRIALS		T84/Visita 14
EDAT DEL NEN	Inicials del nen/a <input type="text"/>	DATA: <input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/>
7 anys	Screening Number <input type="text"/>	dia mes any
	Randomisation Number <input type="text"/>	Investigador <input type="text"/>

Recollida mostres orina

Mostra 3

Data de la mostra a casa: / / **Data de recollida hospital:** / /

La mostra s'ha conservat refrigerada a casa ? **Estat:** refrigerat temperatura ambient

SI NO **Número de tubs:**

Valoració ingesta de calci prèvia a la recollida d'orina (1)

Almenys 1 hora abans de recollir la mostra d'orina, el nen/a ha pres : (almenys una de les següents)

<input type="checkbox"/> 1 tassa de llet de vaca sencera (200 ml)	<input type="checkbox"/> 2 talls de formatge tipus tranxete (2 x 20g)
<input type="checkbox"/> 2 iogurt natural o de fruita (2 x 125g)	<input type="checkbox"/> 2 petits suisse maxi (2 x 100g)
<input type="checkbox"/> 1 got de batut de cacau (200 ml)	<input type="checkbox"/> ALTRES: <input type="text"/>

Resultats tira reactiva

SANG	<input type="text"/>	<input type="text"/>	LEUCOCITS	<input type="text"/>	<input type="text"/>
------	----------------------	----------------------	-----------	----------------------	----------------------

ANEXO 4. EJEMPLO DE RESULTADO DE
DENSITOMETRÍA ÓSEA

INSTITUT DE DIAGNÒSTIC PER LA IMATGE

I D I

HOSPITAL UNIVERSITARI JOAN XXIII DE TARRAGONA

Paciente:

Fecha de nacimiento:

Estatura / Peso:

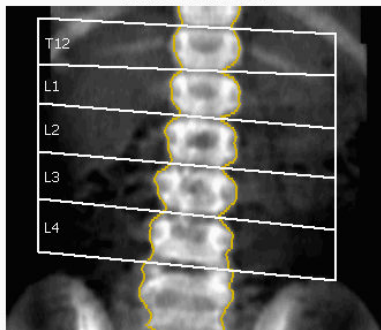
Sexo / Origen étnico:

ID del paciente:

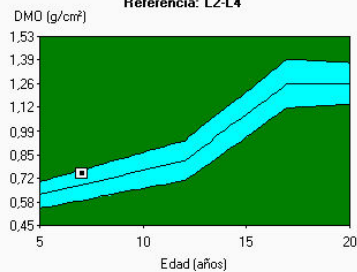
Medido:

Analizado:

Columna AP Densidad ósea



Referencia: L2-L4



Columna AP (L2-L4) Resultados

DMO (g/cm ²) ¹	0,742
T-Score (DE de DMO adulto-joven) ²	-
Z-Score (DE de DMO ajustada a edad) ³	0,8

COMENTARIOS:

Esta imagen no es para diagnóstico

Impreso: 18/01/2010 19:29:28 (3,15)76(3,00:50,00:12,0 0,00:8,10 0,60x1,05
15,3:%Grasa=11,8%
0,00:0,00 0,00:0,00
Nombre del archivo: 7dggvuwgi.dfi
Modo de exploración: Estándar:OneScan 37,0 µSy

1 - Estadísticamente 68% de las exploraciones repetidas caen dentro del IDE ($\pm 0,010$ g/cm² para Columna AP L2-L4)
2 - España Columna AP Población de referencia (v104)
3 - Ajustado a la edad, origen étnico

Lunar Prodigy Advance
PA+42081

INSTITUT DE DIAGNÒSTIC PER LA IMATGE

I D I

HOSPITAL UNIVERSITARI JOAN XXIII DE TARRAGONA

Paciente:		ID del paciente:	
Fecha de nacimiento:		Medido:	
Estatura / Peso:		Analizado:	
Sexo / Origen étnico:			

RESULTADOS AUXILIARES (Columna AP)

Región	¹		²		³		CMO (g)	Área (cm ²)	Anchura (cm)	Estatura (cm)
	DMO (g/cm ²)	sDMO (mg/cm ²)	Adulto-Joven (%)	T-Score	Ajust. a edad (%)	Z-Score				
T12	0,681	-	-	-	-	-	3,85	5,66	2,7	2,10
L1	0,688	-	-	-	114	1,0	4,28	6,22	2,8	2,21
L2	0,720	-	-	-	105	0,4	4,96	6,89	2,9	2,36
L3	0,775	-	-	-	114	1,2	5,93	7,65	3,3	2,35
L4	0,730	-	-	-	109	0,8	6,57	9,00	3,6	2,52
L1-L2	0,705	-	-	-	109	0,7	9,24	13,11	2,9	4,56
L1-L3	0,731	-	-	-	112	0,9	15,17	20,76	3,0	6,92
L1-L4	0,730	-	-	-	110	0,8	21,74	29,76	3,1	9,44
L2-L3	0,749	-	-	-	109	0,8	10,89	14,54	3,1	4,71
L2-L4	0,742	-	-	-	109	0,8	17,46	23,54	3,2	7,23
L3-L4	0,750	-	-	-	111	0,9	12,50	16,65	3,4	4,87

1 - Estadísticamente 68% de las exploraciones repetidas caen dentro del IDE ($\pm 0,010$ g/cm² para Columna AP L2-L4)

2 - España Columna AP Población de referencia (v104)

3 - Ajustado a la edad, origen étnico

Nombre del archivo: 7dggvkwgr.dfx

INSTITUT DE DIAGNÒSTIC PER LA IMATGE

I D I

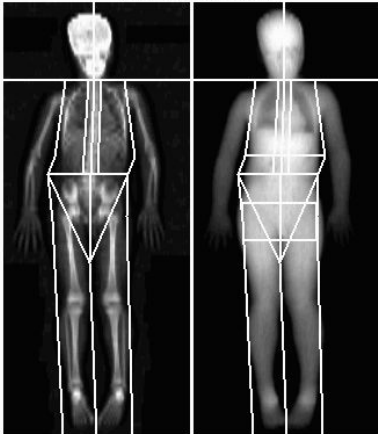
HOSPITAL UNIVERSITARI JOAN XXIII DE TARRAGONA

Paciente:
 Fecha de nacimiento:
 Estatura / Peso:
 Sexo / Origen étnico:

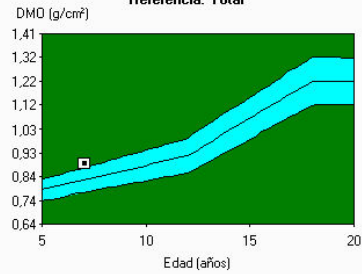
ID del paciente:

Medido:
 Analizado:

Cuerpo total Densidad ósea



Referencia: Total



Cuerpo total (Total) Resultados

DMO (g/cm ²) ¹	0,886
T-Score (DE de DMO adulto-joven) ²	-
Z-Score (DE de DMO ajustada a edad) ³	1,4

COMENTARIOS:

Esta imagen no es para diagnóstico

Impreso: 18/01/2010 19:29:31 (9,15)76:0,15:153,85:31,2 0,00:-1,00 4,80x13,00
 10,0%Grasa=26,6%
 0,00:0,00 0,00:0,00
 Nombre del archivo: 7dggwkwgr.dfi
 Modo de exploración: Estándar 0,4 µGy

1 - Estadísticamente 68% de las exploraciones repetidas caen dentro del IDE ($\pm 0,010$ g/cm² para Cuerpo total Total)

2 - España Cuerpo total Población de referencia (v104)

3 - Ajustado a la edad, origen étnico

Lunar Prodigy Advance
 PA+42081

INSTITUT DE DIAGNÒSTIC PER LA IMATGE

I D I

HOSPITAL UNIVERSITARI JOAN XXIII DE TARRAGONA

Paciente:		ID del paciente:	
Fecha de nacimiento:		Medido:	
Estatura / Peso:		Analizado:	
Sexo / Origen étnico:			

RESULTADOS AUXILIARES (Cuerpo total)

Región	DMO ¹ (g/cm ³)	sDMO (mg/cm ³)	Adulto-Joven ² (%) T-Score	Ajust. a edad ³ (%) Z-Score	CMO (g)	Área (cm ³)
Cabeza	1,513	-	-	-	331,6	219
Brazo Izq.	0,690	-	-	-	53,4	77
Pierna Izq.	0,832	-	-	-	169,4	203
Tronco Izq.	0,660	-	-	-	136,1	206
Izquierdo Total	0,857	-	-	-	490,5	572
Brazo Derecho	0,669	-	-	-	51,4	77
Pierna Dcha.	0,816	-	-	-	163,8	201
Tronco Dcho.	0,701	-	-	-	129,4	184
Derecho Total	0,914	-	-	-	544,5	596
Brazos	0,680	-	-	-	104,8	154
Piernas	0,824	-	-	-	333,2	404
Tronco	0,680	-	-	-	265,5	391
Costillas	0,552	-	-	-	82,9	150
Pelvis	0,783	-	-	-	108,7	139
Columna	0,727	-	-	-	73,9	102
Total	0,886	-	-	108 1,4	1.035,1	1.168

Información pediátrica¹⁴

Edad esquelética (no especificado)
Técnica utilizada (no especificado)

Etapa pubertal (no especificado)
Técnica utilizada (no especificado)

Talla para la edad¹⁵
Diagrama no disponible

CMO para la zona ósea¹⁶
Diagrama no disponible

Zona ósea para la talla¹⁶
Diagrama no disponible

1 - Estadísticamente 68% de las exploraciones repetidas caen dentro del IDE ($\pm 0,010$ g/cm³ para Cuerpo total Total)

2 - España Cuerpo total Población de referencia (v104)

3 - Ajustado a la edad, origen étnico

14 - Resultados sólo con fines de investigación.

15 - De las estadísticas de crecimiento CDC de EE.UU.

16 - De la población de referencia de niños de Lunar

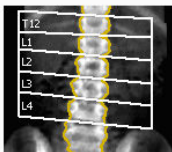
Nombre del archivo: 7dggwkwg.dfx

INSTITUT DE DIAGNÒSTIC PER LA IMATGE

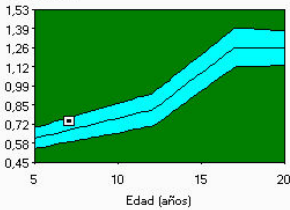
I D I HOSPITAL UNIVERSITARI JOAN XXIII DE TARRAGONA

Paciente:
Fecha de nacimiento:
Estatura / Peso:
Sexo / Origen étnico:

ID del paciente:
Medido:
Analizado:



Referencia: Columna AP L2-L4
DMO (g/cm²)

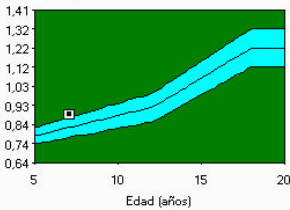


Región	DMO (g/cm ²)	Adulto-Joven (%)	T-Score	Ajust. a edad (%)	Z-Score
L2-L4	0,742	-	-	109	0,8

Esta imagen no es para diagnóstico



Referencia: Cuerpo total Total
DMO (g/cm²)



Región	DMO (g/cm ²)	Adulto-Joven (%)	T-Score	Ajust. a edad (%)	Z-Score
Total	0,886	-	-	108	1,4

Esta imagen no es para diagnóstico

Ajustado a la edad, origen étnico
España Columna AP Población de referencia (v104)
Estadísticamente 68% de las exploraciones repetidas caen dentro del 1DE ($\pm 0,010$ g/cm² para Columna AP L2-L4)

Ajustado a la edad, origen étnico
España Cuerpo total Población de referencia (v104)
Estadísticamente 68% de las exploraciones repetidas caen dentro del 1DE ($\pm 0,010$ g/cm² para Cuerpo total Total)

***ANEXO 5. CUESTIONARIO DE FRECUENCIA DE
CONSUMO DE ALIMENTOS RICOS EN CALCIO***

CUESTIONARIO DE FRECUENCIA DE CONSUMO

Instrucciones

Si us plau, ompli cuidadosament el següent test sobre els hàbits alimentaris del seu fill durant l'últim mes

Primerament, llegeixi a l'esquerra del qüestionari **la llista d'aliments** de cada grup (ex. "llet i derivats)

Marqui la porció habitual del que consumeix el seu fill

.. a continuació, marqui la **freqüència de consum**

L LLET I DERIVATS		$\frac{1}{2}$	=	1	$\frac{1}{2}$	2						
1	Llet sencera	200 ml =1 got	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2	Llet semidesnatada	200 ml =1 got	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3	Llet de creixement	200 ml =1 got	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4	Llet desnatada	200 ml =1 got	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5	Llet de soja	200 ml =1 got	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

COM HA D'OMPLIR EL QÜESTIONARI?

TENINT EN COMPTE:

- ✱ LA FREQUÈNCIA DE CONSUM
- ✱ I LA PORCIÓ

Per cada aliment consumit pel seu fill:

$\frac{1}{2}$: la meitat o menys

= : igual

1 i $\frac{1}{2}$: un i mig

2 : el doble o més

comparant-la amb el que indica a la porció habitual

Begudes: **pel que fa l'aigua: anoti la marca de l'aigua embotellada i si en beu de l'aixeta en quina població viu**

7 anys
QFC Calci

SN _____
INICIALS _____
DATA NAIXAMEN T _____

DATA

--	--	--

D M A

Porció habitual
Porció Standard 1/2 = 1/2 2 MA 1
Mitjana consumida l'últim mes
Vegades/dia 1 2 3
Vegades/setman a 1 2 3-4 5-6
vegades s/mes 1 2-3

LLET I DERIVATS

1	LLET DE VACA SENCERA	200cc (GOT)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2	LLET DE VACA SEMIDESCREMADA	200cc (GOT)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3	LLET DE CREIXEMENT	200cc (GOT)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4	LLET DESCREMADA	200cc (GOT))	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5	LLET DE SOJA	200cc (GOT)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6	CACAU SOLUBLE (tipus Nesquik, cola cao)	15g 1 cull. Sopera	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7	BATUT TIPUS CACAOLAT, ALMENDRINA, OKEY VAINILLA....	100 cc	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9	IOGURT SENCER	1 UNITAT, 125g	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10	IOGURT NATURAL DESNATAT	1 UNITAT, 125g	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
11	IOGURT DE FRUITES	1 UNITAT, 125g	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
12	FORMATGE FRESC	50g	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
13	MATÓ	50g	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
14	PETIT SUISE	100g, 2 unitats	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
15	MOZZARELA	50g	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
16	FORMATGE TIPUS KIRI	30g, 2 unitats	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
17	PARMESA	30g, (1 TALL)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
18	FORMATGE TOU, CABRALES, TETILLA, CHEDDAR, ROQUEFORT, GOUDA, EMMENTAL, GRUYERE, BLAU	30g, (1 TALL)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

ANEXO 6. CUESTIONARIO DE ACTIVIDAD FÍSICA

DE PAQ-C

NUTRIMENTHE. EFFECT OF DIET ON THE MENTAL PERFORMANCE OF CHILDREN		
	Iniciales del niño/a	<input type="text"/>
Revisado por: <input type="text"/>	Screening number	<input type="text"/>
Introducido por: <input type="text"/>	Randomisation number	<input type="text"/>
		T 84
		Fecha: <input type="text"/>
		día mes año
		Edad: 7 años
Cuestionario de actividad física		

Nos gustaría saber cual ha sido tu grado de actividad física durante **los últimos 7 días** (la semana pasada). Esto incluye deportes o danza que te hacen sudar o notar las piernas cansadas, o juegos que te hacen respirar más fuerte como el futbol, correr, bailar, nadar, patinar y otros.

Recuerda:

1. No hay respuestas correctas ni incorrectas — esto no es un test.
2. Por favor, contesta las preguntas de la forma más honesta y precisa que puedas — esto es muy importante.

1. Actividad física en tu tiempo libre: ¿Has realizado alguna de las siguientes actividades durante los últimos 7 días (la semana pasada)? Si es que sí, ¿cuantas veces? (marca solo un círculo por línea).

	N	1-2	3-4	5-6	7
	o	vec	vec	vec	o
		es	es	es	m
					ás
1 Futbol	0	0	0	0	0
2 Básquet	0	0	0	0	0
3 Handbol, voleibol	0	0	0	0	0
4 Tenis, squash, padel	0	0	0	0	0
5 Pin-pon, bádminton	0	0	0	0	0
6 Footing o correr	0	0	0	0	0
7 Atletismo	0	0	0	0	0
8 Gimnástica (gimnástica rítmica, aparatos)	0	0	0	0	0
9 Bicicleta (como deporte)	0	0	0	0	0

10	Natación	0	0	0	0	0
11	Monopatín	0	0	0	0	0
12	Patinaje en línea o sobre hielo	0	0	0	0	0
13	Esquiar o hacer snowboard	0	0	0	0	0
14	Ballet contemporáneo o aerobio	0	0	0	0	0
15	Ballet	0	0	0	0	0
16	Hockey i hockey hielo	0	0	0	0	0
17	Remo, canoa, windsurfing (deportes de agua)	0	0	0	0	0
18	Caminar, escalar	0	0	0	0	0
19	otros: _____	0	0	0	0	0
20	otros: _____	0	0	0	0	0

2. En los últimos 7 días, durante las *clases de educación física (EF)*, ¿con qué frecuencia estuviste muy activo/a (jugando fuerte, corriendo, saltando, encestando)? (Marca sólo una.)

- No hago EF 0
- Casi nunca 0
- A veces 0
- Bastante a menudo 0
- Siempre 0

3. En los últimos 7 días, ¿qué hiciste mayoritariamente durante la *hora del recreo*? (Marca solo una.)

- Sentarme (hablando, leyendo, haciendo los deberes) 0
- Estar de pié o pasear 0
- Correr o jugar un poco, estar de pié o pasear 0
- Correr y jugar mucho 0
- Correr y jugar fuerte casi todo el rato 0

4. En los últimos 7 días, ¿qué hiciste durante la *hora de comer* (además de comer)? (Marca solo una.)

- | | |
|--|-----------------------|
| Sentarme (hablando, leyendo, haciendo los deberes) | <input type="radio"/> |
| Estar de pié o pasear | <input type="radio"/> |
| Correr o jugar un poco, estar de pié o pasear | <input type="radio"/> |
| Correr y jugar mucho | <input type="radio"/> |
| Correr y jugar fuerte casi todo el rato | <input type="radio"/> |

5. En los últimos 7 días, ¿cuantos días *justo después de la escuela*, has practicado deporte, danza o jugado juegos en los que has estado muy activo/a? (Marca solo una)

- | | |
|-------------|-----------------------|
| ninguno | <input type="radio"/> |
| 1 vez | <input type="radio"/> |
| 2 o 3 veces | <input type="radio"/> |
| 4 veces | <input type="radio"/> |
| 5 veces | <input type="radio"/> |

6. En los últimos 7 días, ¿cuantas *tardes* has practicado deporte, danza o jugado a juegos en los que has estado muy activo/a? (Marca solo una)

- | | |
|-------------|-----------------------|
| ninguna | <input type="radio"/> |
| 1 vez | <input type="radio"/> |
| 2 o 3 veces | <input type="radio"/> |
| 4 veces | <input type="radio"/> |
| 5 veces | <input type="radio"/> |

7. El último *fin de semana*, ¿cuantas veces has practicado deporte, danza o jugado a juegos en los que has estado muy activo/a? (Marca solo una)

- | | |
|---------------|-----------------------|
| ninguna | <input type="radio"/> |
| 1 vez | <input type="radio"/> |
| 2 o 3 veces | <input type="radio"/> |
| 4 o 5 veces | <input type="radio"/> |
| 6 o más veces | <input type="radio"/> |

8. ¿Cuál de las siguientes te describe mejor en los últimos 7 días? Lee las cinco afirmaciones antes de decidir cuál de las respuestas te describe a ti.

- a. Dediqué **todo** o **casi todo mi tiempo libre** a hacer cosas que requieren poco esfuerzo físico.
- b. **Algunas veces** (1—2 veces la semana pasada) hice actividades que requieren esfuerzo físico en mi tiempo libre (p.ej. practicar deporte, ir a correr, nadar, montar en bici, aeróbic)
- c. Practiqué actividades físicas **a menudo** (3 — 4 veces) en mi tiempo libre
- d. Practiqué actividades físicas **bastante a menudo** (5 — 6 veces) en mi tiempo libre
- e. Practiqué actividades físicas **muy a menudo** (7 o más veces) en mi tiempo libre

9. Marca para cada día de la semana pasada con qué frecuencia practicaste actividad física (como deporte, juegos, danza o cualquier otra actividad física).

	nada	poca	intermedia	bastante	mucha
Lunes	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Martes	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Miércoles	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Jueves	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Viernes	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Sábado	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Domingo	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

10. ¿Estuviste enfermo la semana pasada, o alguna cosa te impidió realizar las actividades físicas que acostumbras a practicar normalmente? (Marca una.)

SI O NO O

Si es que sí, ¿qué fue? _____

11. ¿Cuanto tiempo pasaste haciendo las siguientes actividades durante los últimos 7 días?

	Mirando la TV	Jugando a videojuegos	Jugando al ordenador
Días entre semana	___H___min	___H___min	___H___min
Días de fin de semana	___H___min	___H___min	___H___min

12. ¿Tienes TV en tu habitación?

SI O NO O

Ahora, piensa en las actividades que has hecho durante el último año.

13. Durante el año pasado, ¿qué deportes jugabas en la escuela? (*Actividades durante las clases de EF*).

	A veces	A menudo	Frecuentemente
Jugué a _____	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Jugué a _____	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Jugué a _____	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Jugué a _____	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

14. Durante el año pasado, ¿qué deportes o juegos que requieran actividad física jugabas fuera de la escuela? (dentro o fuera de la escuela o en un club...o por tu cuenta).

	A veces	A menudo	Frecuentemente
Jugué a _____	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Jugué a _____	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Jugué a _____	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Jugué a _____	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

15. Cuando practico deporte o juegos sudo.

Muy a menudo	A menudo	A veces	Raramente	Nunca
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

16. En mi tiempo libre practico deporte.

Muy a menudo	A menudo	A veces	Raramente	Nunca
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

17. En mi tiempo libre miro la televisión o leo.

Nunca	Raramente	A veces	A menudo	Muy a menudo
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

18. ¿Cuántos minutos caminas o vas en bicicleta cada día para ir y volver de la escuela?

Muy a menudo	A menudo	A veces	Raramente	Nunca
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

19. ¿Qué tareas haces en casa que sean físicamente activas y con qué frecuencia las haces?

	A veces	A menudo	Frecuentemente
Tarea _____	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Tarea _____	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Tarea _____	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Tarea _____	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

20. Cuando hago las tareas de casa sudo.

Nunca	Raramente	A veces	A menudo	Muy a menudo
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

Ahora piensa en las vacaciones (verano, Navidad, etc.)

21. Voy a la playa, lago, piscina...

Nunca, casi nunca	1 vez / a la semana	2-3 / semana	4-5 / semana	Casi cada día
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

22. Hago deportes (bicicleta, patinaje, futbol,...) o otras actividades que me hacen sentir cansado/a y sudado/a.

Nunca, casi nunca	1 vez / a la semana	2-3 / semana	4-5 / semana	Casi cada día
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

23. Durante las vacaciones acostumbro a mirar la TV, jugar a vídeo juegos o al ordenador:

	Mirando la TV	Jugando a videojuegos	Jugando al ordenador
Días entre semana	___ H ___ min	___ H ___ min	___ H ___ min
Días de fin de semana	___ H ___ min	___ H ___ min	___ H ___ min

ANEXO 7. PUBLICACIÓN DERIVADA DE LA TESIS

Reduced Bone Mass in 7-Year-Old Children with Asymptomatic Idiopathic Hypercalciuria

Joaquín Escribano^{a,b} Carmen Rubio-Torrents^a Natalia Ferré^a
Verónica Luque^{a,c} Veit Grote^d Marta Zaragoza-Jordana^a
Mariona Gispert-Llauradó^a Ricardo Closa-Monasterolo^{a,c}
for the European Childhood Obesity Project Group

^aInstitut d'Investigació Sanitària Pere Virgili, Universitat Rovira i Virgili, and ^bHospital Universitari Sant Joan de Reus, Reus, and ^cHospital Universitari de Tarragona Joan XXIII, Tarragona, Spain; ^dHauner Children's Hospital, University of Munich Medical Centre, Munich, Germany

Key Words

Idiopathic hypercalciuria · Bone mineral density · Children

Abstract

Background: Idiopathic hypercalciuria (IHC), i.e. an elevated urinary calcium excretion without concomitant hypercalcemia, is a common disorder in children and can have a range of urinary clinical presentations and decreased bone mineral density (BMD). **Aim:** To assess the effect of IHC on bone mineral content in children without urological symptoms. **Methods:** Calcium excretion, BMD (by dual-energy X-ray absorptiometry), and anthropometry were assessed in 175 seven-year-old children who were classified as IHC or controls. Calcium intake and physical activity were measured as confounding factors. **Results:** The prevalence of IHC was 17.7%. Both groups (controls and IHC) showed similar baseline characteristics in terms of their anthropometry, gender distribution, and protein and calcium dietary intakes as well as physical activity scores. Urinary calciuria was independent of the calcium dietary intake and anthropometry.

BMD correlated with anthropometry and physical activity but not with calcium dietary intake. IHC children had lower whole-body BMD z-scores compared to controls. The role of IHC in reducing the whole-body BMD z-score was still significant even when anthropometry, physical activity, and calcium intake were included as confounders in multivariate analyses. **Conclusions:** The prevalence of IHC in this population of 7-year-old children was about 17%. IHC diagnosis was associated with lower BMD z-scores and osteopenia in 22% of them.

© 2014 S. Karger AG, Basel

Introduction

The clinical consequences of adverse bone health are largely seen in old age; however, there is compelling evidence that many predisposing factors to osteoporosis arise in childhood. It is known that bone remains metabolically active throughout life and is subject to a continuous remodeling process. Thus, it is very important to

KARGER

E-Mail karger@karger.com
www.karger.com/anm

© 2014 S. Karger AG, Basel
0250-6807/14/0644-0304\$39.50/0

Ricardo Closa-Monasterolo
Paediatrics Research Unit
Universitat Rovira i Virgili, IISPV, C/Sant Llorenç, 21
E5-43201 Reus (Spain)
E-Mail ricardo.closa@urv.cat

gain an adequate bone mineral content (BMC) during fetal development [1], childhood, and especially adolescence, which is a critical period for BMC acquisition [2, 3]. Some studies have estimated that an increase in total mineral content of 10% at its peak predicts a delay of 13 years in the onset of osteoporosis [4]. Genetic endowment, age, and gender, which are nonmodifiable factors, may explain up to 80% of the bone mass [5, 6]. However, there are other factors that may influence bone mass accretion, such as sun exposure [7], hormones [8], physical exercise [9], several chronic diseases [10], and diet [1, 11] (mainly the calcium intake) [12].

One specific disease that can influence bone health is idiopathic hypercalciuria (IHC). IHC, defined as an elevated urinary calcium excretion without concomitant hypercalcemia, is a common disorder related to kidney lithiasis [13]. In children, hypercalciuria (HC) can cause a wide range of symptoms, the most common being recurrent macroscopic or microscopic hematuria. Other common manifestations in children are frequency-dysuria syndrome, recurrent urinary infections, and abdominal and lumbar pain. HC has also been associated with a decreased bone mineral density (BMD) [14]. Several authors have found that up to 20–30% of children with HC have a reduced BMD [15]; the impact is stronger when HC is persistent and is present in older children [16–18]. However, IHC may be asymptomatic during the first decades of life, and thus IHC children could remain undiagnosed for long periods. If HC is a deleterious factor for bone health, then screening for this condition in school-aged children becomes important. The aim of this study was to assess the effect of IHC on bone health in a homogeneous sample of prepubertal children, controlling for calcium intake, anthropometric characteristics, and physical activity.

Subjects and Methods

Subjects

Children were recruited from the Spanish subsample of the EU Childhood Obesity Programme (CHOP) at 7 years of age. This study is an ongoing European collaborative prospective investigation of the long-term consequences of different protein intakes during the first year of life in 5 European countries (Belgium, Germany, Italy, Poland, and Spain) [19]. The aim of this study was to evaluate the influence of protein intake during the first year of life on the development of later obesity. For the present subanalysis, all children with a clinical history of urinary tract infection, hematuria, renal colic, flank pain, urolithiasis, or treatment with any drug with an action on calcium metabolism were excluded. The family history of urolithiasis was also recorded.

Measurements

Anthropometry

The nude weight and length of the children were determined using a SECA 701 scale (precision: ± 0.05 kg; SECA, Hamburg, Germany) and a SECA 242 stadiometer (precision: ± 2 mm), respectively. The body mass index [BMI = weight (kg)/length (m)²] was calculated. For analysis, z-scores were calculated according to World Health Organization (WHO) standards [20, 21] using WHO programs [22].

Dietary Intake

Calcium (mg/day) intakes were assessed via a food frequency consumption questionnaire. The questionnaire contained 19 items corresponding to milk and dairy foods. The habitual portion and frequency of consumption during the last month (times/day, times/week, or times/month) for each food item were recorded. All of the questionnaires were checked and entered into the databases by trained nutritionists. Nutritional contents were derived from either producers or national food databases [23, 24]. The calcium intake (mg/day \times kg of body weight) was obtained as the total calcium intake, the calcium intake from milk, and the calcium intake from dairy products. To assess the role of the current dietary protein on urinary calcium excretion, we measured urea excretion as an indicator of the protein intake [25, 26].

Physical Activity

Physical activity was evaluated using the Physical Activity Questionnaire (PAQ-C) as defined by Kowalski et al. [27, 28]. The PAQ-C is a self-administered, 7-day recall questionnaire that measures general moderate-to-vigorous physical activity levels during the school year. It includes leisure time and daily physical activities as well as regular sports practices. We used physical activity as a confounding factor for BMD.

IHC Screening and Urinalysis

Two urine samples 1 week apart on a second morning micturition were obtained for HC screening after a standardized breakfast that contained dairy products (equivalent in calcium content to 200 cm³ of whole cow's milk). Samples were collected and preserved at refrigeration temperatures until analyses (4–8°C). A dipstick was used to exclude the presence of an overt urinary tract infection or hematuria in every collected sample. Following the criteria reported by Stapleton et al. [29], HC was diagnosed when the value of the calcium-to-creatinine ratio (UCa/UCr) was elevated in both urine collections; the HC diagnosis was made based on UCa/UCr (mg/mg) values above 0.21. The cutoff criterion for an HC diagnosis was the 95th percentile value of urinary calcium excretion for a Caucasian population of 7 years of age [30]. If the values of the first 2 samples were discordant, a third urine sample was collected the following week and analyzed to define the final classification. Urea, creatinine, and calcium were determined using standardized methods. Calcium (mg/dl) was measured after acidification of the urine sample, adding HCl 6N to obtain a pH below 2, to dissolve the precipitated calcium. Urinary creatinine (mg/dl) was analyzed using the kinetic Jaffe reaction in an automated ADVIA 1650/Mega Bayer R (Leverkusen, Germany) in accordance with standardized protocols. Urea was measured with reagents from Beckman-Coulter (Fullerton, Calif., USA) in a Synchron Lxi[®] automated analyzer (Beckman-Coulter). The ratio of urea/UCr (mg/mg)

was also calculated for each urine sample. The urine ratio values used for the statistical analyses were the means of 2 or 3 single measurements.

Dual-Energy X-Ray Absorptiometry

Fat mass and bone density were measured via dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) using a Lunar Prodigy Primo device. The exposure to radiation was 0.4 mGy for the whole body (WB) and 0.9 mGy for the lumbar spine (LS). A 76-keV X-ray source of energy was used and the precision error of the test was 1%. All of the measurements were performed by the same technician to avoid interindividual variations. The fat mass index (FMI) was calculated as fat mass (kg)/height (m)².

The following bone densitometry variables were analyzed: WB and LS BMC (g) and bone mineral area (BMA; cm²). The calculated variables were total and lumbar BMD (g/cm²). Specific gender z-scores were calculated using our own current data for WB and LS BMD. Children with values of BMD below -1 z-score were classified as osteopenic according to WHO recommendations [31]. As the term 'osteoporosis' is controversial in children and adolescents [32], we will use the recommended term 'low BMD for chronologic age', rather than osteoporosis, to classify children with a BMD z-score below -2.

Bone mineral apparent density (BMAD), which is a volumetric vertebral size-independent parameter, was calculated as BMAD = LS BMC (g)/[LS BMA (cm²)]^{1.5} [33].

Statistical Analysis

Data management and statistical analyses were carried out using the software package SPSS Statistics version 20.0 (IBM Corp., Armonk, N.Y., USA). Descriptive results were expressed as means (±SD). Students t tests or Mann-Whitney U tests were used for statistical comparison of quantitative variables between groups as appropriate. Pearson or Spearman correlation coefficients were used to test for linear associations among continuous variables. Differences in qualitative variables between groups were assessed using a χ^2 test. Multiple linear regression analyses were applied to test the effect of IHC on BMD with adjustment for confounding factors such as anthropometry, calcium intake, and physical activity. $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Ethical Considerations

This study was performed according to the Helsinki II declaration and was approved by the local ethical committees. All parents or caregivers of the participating infants provided written informed consent for participation in the study in accordance with the local ethical committees.

Results

Study Sample

Screening for HC was offered to the Spanish subsample of 213 infants at 7 years of age from October 2009 to March 2011. Of the eligible subjects, 185 agreed to participate and 176 fully adhered to the protocol of the study (i.e. provided all necessary spot urine samples to be classified as

Table 1. Anthropometric and baseline characteristics of the participants by study diagnosis group

	Control (n = 144)	IHC (n = 31)	p value
Gender (M/F)	70/74	16/15	0.762
Family history of lithiasis, n (%)	53 (52.5)	15 (62.5)	0.375
Age, years	7.02±0.13	7.06±0.06	0.132
Weight, kg	25.58±4.67	25.52±4.60	0.947
Weight z-score	0.66±1.12	0.65±1.10	0.966
Height, cm	122.71±4.86	123.32±4.44	0.522
Height z-score	0.26±0.90	0.35±0.82	0.614
BMI	16.90±2.30	16.72±2.45	0.692
BMI z-score	0.69±1.17	0.60±2.07	0.699
FMI	3.79±1.96	3.52±2.01	0.507
FMI z-score	4.76±1.77	4.52±1.83	0.502

Values are presented as means ± SD unless otherwise stated. A χ^2 test was used for qualitative variables and Student's t test was used for quantitative ones.

hypercalciuric or not) and were included. We analyzed whether the nutritional intervention conducted during the first year of life on these children could have had any influence on the key outcomes. No significant differences in calciuria or BMD were found between feeding types. A girl with a history of reflux nephropathy and microhematuria was excluded. Thus, 175 children (82% of the Spanish subsample) were finally included in the analyses. Of those 175 children, 167 underwent DXA as well. Figure 1 shows a flowchart of the participants in this study.

Prevalence of HC

Thirty-three of the 175 studied children required a third urine sample. A total of 31 (17.7%) children were diagnosed with IHC. The calcium excretion ratio was 0.27 ± 0.07 in children diagnosed with IHC and 0.10 ± 0.05 (mg/mg) in controls ($p < 0.001$). IHC occurred similarly in males (18.6%) and females (16.9%) ($p = 0.762$). All children had had normal baseline concentrations of serum calcium and acid-base balances in previous analyses (data not shown). Family histories of lithiasis were similar in children with IHC (62.5%) and controls (52.5%) ($p = 0.375$).

Effect of Anthropometric and Dietary Variables on Calciuria

Anthropometric variables were similar in both study groups (table 1). All children were well nourished and

Table 2. Calcium intake in children by study diagnosis group

	Control (n = 139)	IHC (n = 29)	p value
Total calcium intake, mg/day	866.3±385.7	797.8±456.2	0.179
Total calcium intake, mg/day × kg	33.3±16.9	29.8±17.9	0.327
Calcium intake from milk, mg/day × kg	15.2±9.0	12.9±8.8	0.248
Calcium intake from dairy products, mg/day × kg	16.3±11.3	14.6±9.5	0.422

Values are presented as means ± SD. Student's t test or the Mann-Whitney U test was used as appropriate for the quantitative variables.

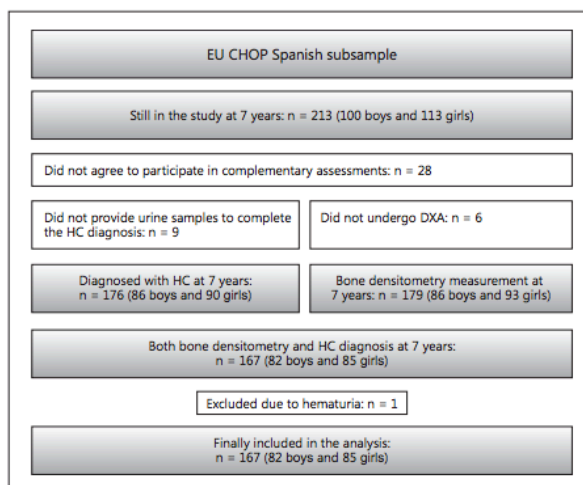


Fig. 1. Flowchart of the participants in this study.

consumed an unrestricted habitual diet. No significant correlations were found between weight, height, or BMI and calciuria (data not shown).

In addition, no effect of calcium intake on calciuria was detected. First, no significant correlation between total calcium intakes (mg/day × kg) and calciuria was found ($r = -0.080$, $p = 0.310$). Moreover, there were no differences between normocalciurics and IHC children in terms of their total calcium intake or their intake of calcium from milk or dairy products (table 2), with a mean calcium intake of 854.3 ± 398.6 mg/day. Both groups were similarly distributed within the quartiles of total calcium intake (34.6, 13.8, 25.8, and 25.8% for the 1st, 2nd, 3rd,

and 4th quartiles of mg of calcium/day × kg). The calcium dietary source did not influence the calciuria levels. Calcium intake estimations from milk or dairy products were similar in both groups (table 2). The urea/creatinine ratio was associated with the UCa/UCr ($r = 0.270$, $p < 0.001$) but the urea/creatinine ratio did not significantly differ between the study groups (29.7 ± 7.0 vs. 28.5 ± 12.9 mg/mg for IHC and controls, respectively; $p = 0.081$).

Effect of Anthropometry, Dietary Variables, and Physical Activity on Bone Densitometry

Boys showed higher WB BMC (890.9 ± 119.6 vs. 852.9 ± 126.9 g, $p = 0.048$), WB BMA ($1,055.8 \pm 103.5$ vs. $1,017.3$

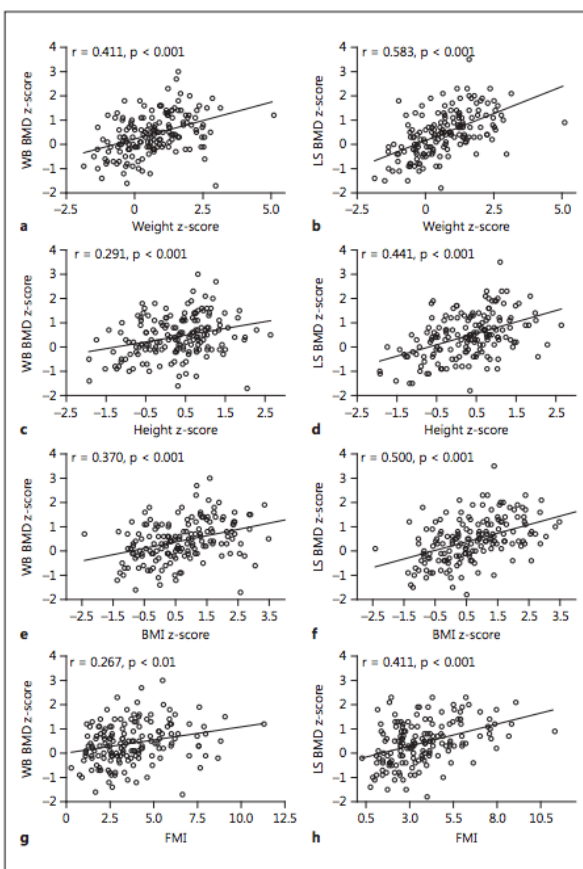


Fig. 2. Correlation between anthropometric variables and bone densitometry. WB BMD (a, c, e, g) and LS BMD (b, d, f, h) correlations with weight z-score, height z-score, BMI z-score and FMI, respectively.

$\pm 119.7 \text{ cm}^2$, $p = 0.029$), and LS BMA (27.3 ± 2.8 vs. $26.0 \pm 2.7 \text{ cm}^2$, $p = 0.003$) as well as lower LS BMAD (0.13 ± 0.02 vs. $0.14 \pm 0.01 \text{ g/cm}^3$, $p = 0.014$) than girls. However, among all of these variables, significant differences between genders disappeared when z-scores were analyzed.

WB BMD z-scores and LS BMD z-scores were directly associated with all anthropometric variables (fig. 2) and were not associated with the total calcium intake (mg/day

$\times \text{ kg}$) or the urinary urea/creatinine ratio. The physical activity (PAQ-C) score was directly associated with the WB BMC ($r = 0.201$, $p = 0.015$) and the LS BMAD z-score ($r = 0.375$, $p < 0.001$) but not with BMD or the BMD z-score. No differences were found between controls and IHC in terms of physical activity (2.85 ± 0.48 vs. 2.70 ± 0.48 score points for controls and IHC children, respectively; $p = 0.141$).

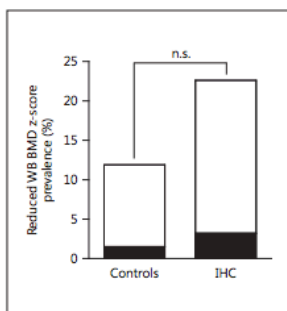


Fig. 3. Accumulated prevalence of osteopenia (WB BMD z-score lower than -1) (open bars) and low bone density for chronologic age (WB BMD z-score lower than -2) (closed bars) in control and IHC-diagnosed children. n.s. = Not significant.

Effect of HC on Bone Densitometry

IHC children exhibited lower WB BMD compared to controls (table 3). Differences between groups were borderline significant as absolute values (0.84 ± 0.04 vs. 0.83 ± 0.04 g/cm², $p = 0.055$) and significant when they were gender adjusted as z-scores ($p = 0.040$) (table 3). No differences were observed between study groups in any of the other bone densitometry-assessed variables (table 3).

Seven (22.6%) IHC children and 16 (11.9%) controls had a WB BMD z-score below -1 . The relative risk was 1.91 (95% CI 0.86–4.23, $p = 0.113$) and did not reach statistical significance. Three children (2 controls and 1 IHC) showed WB BMD z-scores below -2 and could be categorized as low bone density for chronologic age. The prevalence of this feature was similar among IHC and controls (3.2 vs. 1.5% of the IHC and controls, respectively, with a relative risk of 2.27; 95% CI 0.21–24.19) but did not reach statistical significance ($p = 0.498$) (fig. 3).

Simple linear regression analyses revealed no effect of total calcium intake, urinary urea/creatinine ratio, or physical activity (measured as the PAQ-C score) on the WB BMD z-score. Conversely, an IHC diagnosis as well as all anthropometric variables were able to modulate the WB BMD z-score ($p = 0.044$ for IHC and $p < 0.001$ for anthropometric variables). Therefore, we included IHC diagnosis and weight z-score (the most predictive of the anthropometric variables) in a multivariate linear regression model as independent variables and adjusted for oth-

Table 3. LS and WB bone densitometry parameters by study diagnosis group

	Control (n = 135)	IHC (n = 31)	P value
LS (L1 to L4)			
BMC, g	18.56 \pm 3.10	18.85 \pm 3.01	0.634
BA, cm ²	26.40 \pm 2.60	27.20 \pm 3.50	0.144
BMD, g/cm ²	0.70 \pm 0.07	0.69 \pm 0.08	0.587
BMD z-score	0.02 \pm 1.06	-0.01 \pm 0.84	0.900
BMAD, g/cm ³	0.13 \pm 0.02	0.13 \pm 0.02	0.153
BMAD z-score	0.02 \pm 0.98	-0.02 \pm 0.96	0.158
WB			
BMC, g	875.0 \pm 129.6	857.1 \pm 99.6	0.472
BA, cm ²	1,036.4 \pm 116.0	1,034.0 \pm 103.7	0.915
BMD, g/cm ²	0.84 \pm 0.04	0.83 \pm 0.04	0.055
BMD z-score	0.09 \pm 0.99	-0.31 \pm 0.88	0.040

Values are presented as means \pm SD. Student's t test or the Mann-Whitney U test was used as appropriate for the quantitative variables.

er confounding variables to obtain the best model to explain the WB BMD z-score (table 4). The effect of IHC diagnosis on the WB BMD z-score remained statistically significant even when we adjusted the model for the theoretically most relevant studied variables (i.e. physical activity and calcium intake). However, the most predictive model was the one that included only anthropometry and IHC diagnosis. This model was able to explain up to 18.7% of the WB BMD z-score variability (table 4), whereas the adjusted model (including also physical activity and calcium intake, which had no statistically significant effect) explained only up to 16.4%, showing no statistical significance among the adjusted variables.

Discussion

As far as we know, this is the first study to demonstrate a reduction in BMD in children with asymptomatic IHC, which may have important implications for long-term bone health. One of the main strengths of our study is that we controlled the most important factors that modulate urinary calcium excretion and BMD.

The IHC prevalence in our study sample was in the higher range of the already reported prevalences in Spanish children (7.8 and 16%) [34, 35]. Studies in children have not conclusively demonstrated a clear difference between the different subtypes of HC (resorptive, renal, and absorptive), overcoming classification modifications in the same

Table 4. Effect of IHC on the WB BMD z-score

	n	Estimate	95% CI	p	R ²
Model adjusted for anthropometry					
Weight z-score	164	0.361	0.240 to 0.482	<0.001	0.187
IHC (yes vs. no)		-0.379	-0.727 to -0.032	0.033	
Model adjusted for anthropometry, physical activity, and calcium intake					
Weight z-score	145	0.240	0.121 to 0.359	<0.001	0.164
IHC (yes vs. no)		-0.351	-0.681 to -0.021	0.037	
PAQ-C score		-0.248	-0.023 to 0.519	0.072	
Calcium intake, mg/day × kg		-0.004	-0.012 to 0.004	0.306	

children over the years [14]. Patients with resorptive HC present major bone damage, but this is present also in the other subtypes [36, 37]. For this reason, we were interested in evaluating children with any subtype of IHC, and therefore we used a general protocol for HC diagnosis without performing specific tests to determine the different pathophysiological subtypes described within IHC.

Urinary Calcium Excretion Evaluation

Several factors such as age, body size, and the intake of a number of nutrients influence urinary calcium excretion in humans [38–40]. It is known that a positive association exists between BMI and urinary excretion of sodium, calcium, uric acid, and citrate. Furthermore, overweight has been associated with an increased risk of calcium stones in both adults and children with HC [41]. In our study, we found no relationship between anthropometric variables and calciuria, possibly because all children were the same age and had similar anthropometric characteristics.

The most important dietary factor affecting calciuria is calcium intake, but large epidemiological studies have shown that significant differences in dietary calcium intake have little influence on the level of calciuria in either normal subjects or those with kidney stones [42]. In our study, children with IHC showed daily calcium intakes similar to those of controls, and there was no association between calcium intake and urinary excretion. On the other hand, a high consumption of animal proteins could cause acid overload, which would inhibit the renal reabsorption of calcium and increase its urinary excretion [43]. To control the possible effect of protein intake on calciuria, we analyzed urinary urea as the urea/creatinine ratio has been demonstrated to be an accurate indicator of protein intake [25, 26, 34]. Although we found a slight correlation between urea/creatinine and calciuria, both

controls and IHC had similar urea excretion levels. Therefore, we assumed no significant bias in the classification of children as IHC secondary to dietetic factors, as the intakes of calcium as well as proteins were similar in the two diagnosis groups.

Influence of HC on Bone Health

In this study, we also controlled many of the factors that may influence BMD, such as anthropometric characteristics, dietary factors, and physical activity. Throughout childhood, the length and width of bones increase, the cortical thickness increases, and there is a dramatic increase in bone mass as well as a significant increase in bone density. All of these processes are influenced by genetic, hormonal, and environmental factors. The hormonal effect had little influence on our study because our children were all in the prepubertal stage. Adequate calcium and vitamin D availability together with regular physical activity are among the most important environmental factors for the optimal accrual of bone mineral mass and density [44]. A meta-analysis of 19 randomized controlled trials including 2,859 healthy children aged 3–18 years showed a positive effect of calcium supplementation on the total body BMC with doses ranging between 300 and 1,200 mg/day [45]. Moreover, an animal protein-rich diet produces an acid overload caused by mobilization of the bone buffer system, which favors a loss of calcium deposits, together with renal physiology changes that cause glomerular hyperfiltration and inhibit tubular reabsorption of calcium, thus increasing the calciuria. This complex mechanism causes a negative calcium balance and bone loss [15]. In relation to these dietetic factors, in our study we did not find associations between calcium and protein intake and BMD, probably because they were within the normal range for that age.

On the other hand, it is well known that exercise exerts a positive effect on bone mass. Physical activity during early childhood and adolescence is an important predictor of the bone mass peak, which may account for up to 17% of the variance in BMD between individuals in their late 20s [6]. In our study, physical activity levels were similar in both groups (IHC and controls), but, as expected, we found direct associations between physical activity and WB BMC as well as with the LS BMAD z-score; therefore, we adjusted the effect of HC on BMD for physical activity in multivariate analyses.

A low weight and a low BMI are well-documented risk factors for future fractures, whereas a high BMI appears to be protective. Body weight is positively associated with WB BMD in adults, possibly as a consequence of enhanced mechanical strain. Accordingly, we also observed an association between anthropometric variables and bone densitometry in the 7-year-old children, with weight being the most highly correlated variable.

It is worth commenting that the LS BMD might be affected by the above-mentioned factors in a different way than the rest of the body is not. LS BMD mainly consists of trabecular bone, whereas WB BMD consists of 80% cortical bone. Thus, LS BMD is mostly affected by weight bearing, whereas WB BMD is mostly affected by nutrition and physical activity. Our study was consistent with these characteristics and mechanisms based on the higher correlations observed between anthropometric variables and LS versus WB densitometry (fig. 2).

It is well known that there is renal loss of calcium in patients with HC caused by a defect in the reabsorption of filtered calcium, even among children with increased intestinal absorption. This effect leads to a negative balance of calcium in most of these patients, which promotes bone loss [46]. Bone loss in children with IHC can result from increased bone resorption, decreased bone formation, or both. The main mechanism is controversial, and several authors argue that bone loss is consistent with increased bone resorption and/or turnover and could be precociously detected in trabecular bone in the LS [15], but others advocate the notion that the low BMD is due principally to a suppression of bone formation, especially in patients with absorptive HC. Therefore, a common finding in studies on IHC children is a frequent decrease in BMD. Thus, a current concern is the contribution of persistent HC to a diminished bone mass. In 1992, Perrone et al. [17] examined 20 children with IHC resulting from increased intestinal absorption of calcium. Among these children, 4 (20%) showed a reduced LS BMD. In a previous study, we, like other authors, observed a lower BMD in patients with

sustained HC compared to cases with rare or intermittent HC [17, 18]. In addition, different authors have reported inverse associations between BMD and age in patients with IHC [16]. Thus, it seems that bone loss may be influenced by the magnitude and the persistence of elevated calciuria, supporting the idea that prolonged periods of HC are needed to affect the bone structure. This may explain why children with asymptomatic HC, where the calciuria intensity is probably lower, would have less skeletal involvement. All of these features are relevant for the interpretation of our results. We found a significant reduction of WB BMD z-scores among IHC children, with a slight reduction in the lumbar area that did not reach statistical significance compared to controls. This fact could be attributed to a possibly lower proportion of patients with resorptive IHC in our series (which is more symptomatic than absorptive IHC) and therefore less trabecular bone involvement. The reported prevalence of osteopenia in symptomatic HC children ranges from 30 to 47% [15]. We found a slightly lower prevalence of osteopenia (22%) probably because our IHC children were younger and asymptomatic. Despite the absence of a statistical difference between IHC and controls in the prevalence of serious bone demineralization (3.2 vs. 1.5%), the fact that the WB BMD z-scores of asymptomatic IHC children were lower at 7 years of age is of great importance due to the long-term possible consequences if HC persists. It is also noteworthy that most of the relevant factors affecting BMD were controlled in our study, and even analyses adjusting for those factors showed a reduced BMD in IHC children. Among those factors, the ones most related to BMD were anthropometry and physical activity. Our multivariate analyses demonstrated that those factors did not interfere with the effect of HC on bone mineralization.

Strengths and Limitations

As previously stated, in our study we controlled results for the most relevant factors that modulate urinary calcium excretion and BMD. However, a limitation might be that we did not control the dietary intake of vitamin D and therefore we have to assume a similar effect in all children in our study which was conducted in the same Mediterranean geographical area. We diagnosed HC including all physiopathological subtypes. As patients with resorptive HC present major bone damage, our selection of patients could have modulated our findings. Other limitations we have to assume are related to the single age and time point assessment. We included only 7-year-old children and performed evaluations as transversal observations. This design did not allow us to determine whether the observed

differences in bone mineralization between normocalcemics and hypercalcaemics disappeared or were enhanced at further ages. Despite this limitation, our aim was to detect bone affection in an early age period, and for this reason we selected children in the prepubertal period.

Conclusions

We found a nondepreciable 17% of IHC children among an apparently healthy population of 7-year-old children. IHC children showed reduced WB BMD z-scores, with 22% of them at the osteopenic level. We think that screening for IHC in school-aged children could be important because the reduction of bone mass seems to be precocious, already present in previously undiagnosed children, suggesting that asymptomatic IHC could act as a detrimental factor influencing BMD in the future. The natural course of HC-associated low bone density requires further evaluation. Longitudinal studies in this pediatric population will help us to address the significance of this prepubertal bone loss for the risk of fractures in adulthood.

European Childhood Obesity Project Group

J. Beyer, M. Fritsch, G. Haile, U. Handel, I. Hannibal, B. Koletzko, S. Kreichauf, I. Pawellek, S. Schiess, S. Verwied-Jorky, R. von Kries, and M. Weber (Children's University Hospital, University of Munich Medical Center, Munich, Germany); A. Dobrzańska,

D. Gruszfeld, R. Janas, A. Wierzbicka, P. Socha, A. Stolarczyk, and J. Socha (Children's Memorial Health Institute, Warsaw, Poland); C. Carlier, E. Dain, P. Goyens, J.N. Van Hees, J. Hoyos, J.P. Langhendries, F. Martin, P. Poncelet, and A. Xhonneux (ULB, Bruxelles, Belgium, and CHC St. Vincent, Liège-Rocourt, Belgium); E. Perrin (Danone Research Centre for Specialised Nutrition, Schiphol, The Netherlands), and C. Agostoni, M. Giovannini, A. Re Dionigi, E. Riva, S. Scaglioni, F. Vecchi, E. Verducci (University of Milan).

Acknowledgement

We are very grateful to the families taking enthusiastically part in the Childhood Obesity Project. We gratefully acknowledge Francisco Javier Villalba Rubio (from IDI, Hospital Universitari de Tarragona Joan XXIII) for his work performing DXA measurements and Pol Solé Navais (URV) for his help on data introduction.

Disclosure Statement

The studies reported herein have been carried out with partial financial support from the European Union, within the 5th Framework Programme, research grants No. QLRT-2001-00389 and QLK1-CT-2002-30582, the 6th Framework Programme, contract No. 007036, and the 7th Framework Programme (FP7/2008-2013), under grant agreement No. 212652 (NUTRIMENTHE Project "The Effect of Diet on the Mental Performance of Children") (FP7/2007-2013), and under the grant agreement No. 289346 (project EarlyNutrition). This paper does not necessarily reflect the views of the Commission and in no way anticipates the future policy in this area.

References

- 1 Specker B: Nutrition influences bone development from infancy through toddler years. *J Nutr* 2004;134:691S-695S.
- 2 Bailey DA, Martin AD, McKay HA, Whiting S, Mirwald R: Calcium accretion in girls and boys during puberty: a longitudinal analysis. *J Bone Miner Res* 2000;15:2245-2250.
- 3 Aguado Henche S, Rodriguez Torres R, Clemente de Arriba C, Gomez Pellico L: Total and regional bone mineral content in healthy Spanish subjects by dual-energy X-ray absorptiometry. *Skeletal Radiol* 2008;37:1025-1032.
- 4 Hernandez CJ, Beaupré GS CD: A theoretical analysis of the relative influences of peak BMD, age-related bone loss and menopause on the development of osteoporosis. *Osteoporos Int* 2003;14:843-847.
- 5 Hui SL, Koller DL, Foroud TM, Econs MJ, Johnston CC, Peacock M: Heritability of changes in bone size and bone mass with age in premenopausal white sisters. *J Bone Miner Res* 2006;21:1121-1125.
- 6 Davies JH, Evans BA, Gregory JW: Bone mass acquisition in healthy children. *Arch Dis Child* 2005;90:373-378.
- 7 Valimaki VV, Alftan H, Lehmskallio E, et al: Vitamin D status as a determinant of peak bone mass in young Finnish men. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:76-80.
- 8 Sneppen SB, Hoeck HC, Kollerup G, Sorensen OH, Laurberg P, Feldt-Rasmussen U: Bone mineral content and bone metabolism during physiological GH treatment in GH-deficient adults - an 18-month randomised, placebo-controlled, double blinded trial. *Eur J Endocrinol* 2002;146:187-195.
- 9 Martyn-St James M, Carroll S: High-intensity resistance training and postmenopausal bone loss: a meta-analysis. *Osteoporos Int* 2006;17:1225-1240.
- 10 Secondi MV, Flores L, Perez M, Ramirez S: Alteración de la masa ósea en la infancia y en la adolescencia: revisión bibliográfica. *Rev Hosp Mat Inf Ramón Sardá* 2009;28:78-85.
- 11 Greer FR, Krebs NF: National Academy of Pediatrics Committee on Nutrition: Optimizing bone health and calcium intakes of infants, children, and adolescents. *Pediatrics* 2006; 117:578-585.
- 12 Cadogan J, Eastell R, Jones N, Barker ME: Milk intake and bone mineral acquisition in adolescent girls: randomised, controlled intervention trial. *BMJ* 1997;315:1255-1260.
- 13 Escribano Subias J, Vicente Rodriguez M, Felio Rovira A, Balaguer Santamaria A, Colomer Kammuller L, Castejon Sanz E: Idiopathic hypercalcaemia: clinical manifestation, outcome and risk for urolithiasis in children. *An Esp Pediatr* 1997;46:161-166.
- 14 Srivastava T, Schwaderer A: Diagnosis and management of hypercalcaemia in children. *Curr Opin Pediatr* 2009;21:214-219.
- 15 Zerwekh JE: Bone disease and hypercalcaemia in children. *Pediatr Nephrol* 2010;25:395-401.

- ▶ 16 Garcia-Nieto V, Navarro JF, Ferrandez C: Bone loss in children with idiopathic hypercalcaemia. *Nephron* 1998;78:341-342.
- 17 Perrone HC, Marone MMS, Bianco AC, Toporovski J, Malvestiti LF, Schor N: Bone mineral density in hypercalcaemic children: a 5 year follow-up. *Pediatr Nephrol* 1995;9:121.
- 18 Hernandez A, Escibano J, Salvado O, Pagone P: Osteopenia en niños con hipercalcaemia idiopática persistente. *Nefrología* 2007;27:C60.
- ▶ 19 Koletzko B, von Kries R, Closa R, et al: Lower protein in infant formula is associated with lower weight up to age 2 y: a randomized clinical trial. *Am J Clin Nutr* 2009;89:1836-1845.
- ▶ 20 WHO Multicentre Growth Reference Study Group: WHO Child Growth Standards based on length/height, weight and age. *Acta Paediatr Suppl* 2006;450:S76-S85.
- 21 WHO Multicenter Growth Reference Study Group: WHO Child Growth Standards: methods and development - head circumference-for-age, arm circumference-for-age, triceps skinfold-for-age and subscapular skinfold-for-age. Geneva, WHO, 2007.
- 22 WHO Multicentre Growth Reference Study Group: WHO Anthro software for PC. Geneva, WHO, 2009.
- 23 Centre d'Ensenyament Superior de Nutrició i Dietètica: Tablas de Composición de Alimentos. Barcelona, Edicions Universitat de Barcelona, 2002.
- 24 Mataix J, Mañas M, Llopis J, Martínez de Victoria E, Sánchez JJ, Borregon A: Tabla de Composición de Alimentos Españoles. Granada, Universidad de Granada, 2003.
- ▶ 25 Frey J, Daudon M, Raby N, et al: Clinical value of urinary biochemical parameters. *Ann Biol Clin (Paris)* 2001;59:13-25.
- ▶ 26 Polito C, Signoriello G, Andreoli S, La Manna A: Urinary urea excretion in idiopathic hypercalcaemia of children. *J Pediatr Urol* 2006; 2:419-423.
- 27 Kowalski K, Crocker P, Donen R: The Physical Activity Questionnaire for Older Children (PAQ-C) and Adolescents (PAQ-A) Manual. Saskatoon, University of Saskatchewan, 2004.
- ▶ 28 Janz KF, Lutuchy EM, Wenthe P, Levy SM: Measuring activity in children and adolescents using self-report: PAQ-C and PAQ-A. *Med Sci Sports Exerc* 2008;40:767-772.
- ▶ 29 Stapleton FB, Noe HN, Jerkins G, Roy S 3rd: Urinary excretion of calcium following an oral calcium loading test in healthy children. *Pediatrics* 1982;69:594-597.
- ▶ 30 So NP, Osorio AV, Simon SD, Alon US: Normal urinary calcium/creatinine ratios in African-American and Caucasian children. *Pediatr Nephrol* 2001;16:133-139.
- 31 Vitamin and mineral requirements in human nutrition. Rep joint FAO/WHO expert consult. Bangkok, September 21-30, 1998.
- ▶ 32 Gordon CM, Bachrach LK, Carpenter TO, et al: Dual energy X-ray absorptiometry interpretation and reporting in children and adolescents: the 2007 ISCD Pediatric Official Positions. *J Clin Densitom* 2008;11:43-58.
- ▶ 33 Carter DR, Bouxsein ML, Marcus R: New approaches for interpreting projected bone densitometry data. *J Bone Miner Res* 1992;7:137-145.
- ▶ 34 Garcia-Nieto V, Siverio B, Monge M, Toledo C, Molini N: Urinary calcium excretion in children with vesicoureteral reflux. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18:507-511.
- ▶ 35 Melian JS, Garcia Nieto V, Sosa AM: Inheritance and prevalence of hypercalcaemia in the children from the island of La Gomera. *Nefrología* 2000;20:510-516.
- ▶ 36 Pak CY, Heller HJ, Pearle MS, Odivina C V, Poindexter JR, Peterson RD: Prevention of stone formation and bone loss in absorptive hypercalcaemia by combined dietary and pharmacological interventions. *J Urol* 2003;169: 465-469.
- ▶ 37 Pietschmann F, Breslau NA, Pak CY: Reduced vertebral bone density in hypercalcaemic nephrolithiasis. *J Bone Miner Res* 1992;7: 1383-1388.
- ▶ 38 Esbjörner E, Jones IL: Urinary calcium excretion in Swedish children. *Acta Paediatr* 1995; 84:156-159.
- ▶ 39 Reusz GS, Dobos M, Byrd D, Sallay P, Miltényi M, Tulassay T: Urinary calcium and oxalate excretion in children. *Pediatr Nephrol* 1995;9:39-44.
- ▶ 40 Escibano J, Balaguer A, Roqué I, Figuls M, Feliu A, Ferré N: Dietary interventions for preventing complications in idiopathic hypercalcaemia. *Cochrane Database Syst Rev* 2014;2:CD006022.
- ▶ 41 Leonetti F, Dussol B, Berthezene P, Thirion X, Berland Y: Dietary and urinary risk factors for stones in idiopathic calcium stone formers compared with healthy subjects. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13:617-622.
- ▶ 42 Taylor EN, Fung TT, Curhan GC: DASH-style diet associates with reduced risk for kidney stones. *J Am Soc Nephrol* 2009;20:2253-2259.
- ▶ 43 Moe OW: Kidney stones: pathophysiology and medical management. *Lancet* 2006;367: 333-344.
- ▶ 44 Bianchi ML: Osteoporosis in children and adolescents. *Bone* 2007;41:486-495.
- ▶ 45 Winzenberg T, Shaw K, Fryer J, Jones G: Effects of calcium supplementation on bone density in healthy children: meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ* 2006;333: 775.
- ▶ 46 Worcester EM, Coe FL: New insights into the pathogenesis of idiopathic hypercalcaemia. *Semin Nephrol* 2008;28:120-132.

