

2 Hipótesis y objetivos

2.1. Planteamiento

La litiasis renal es el resultado de un proceso multifactorial crónico en el que la existencia de un único factor no puede explicar por sí sólo la formación de cálculos ya que éstos son el resultado de la coexistencia de múltiples factores.

Hasta la actualidad, se han estudiado varios factores de riesgo de la litiasis. Dentro de las causas extrínsecas al individuo, existen muchos trabajos que evalúan el efecto de la geografía, el clima, la ocupación, la dieta e ingesta de líquidos y las enfermedades metabólicas, pero pocos que evalúen factores psicosociales como el nivel socioeconómico y el estrés.

El estrés es un candidato a ser considerado un factor de riesgo de la litiasis oxalocálcica, que es la forma más frecuente de litiasis en nuestra sociedad, ya que supone una hiperactivación del eje hipofisario-córticoadrenal y del eje simpático-adrenal que implica cambios importantes en los niveles de cortisol, aldosterona y catecolaminas en sangre. El estrés agudo implica una activación del eje simpático-adrenal, pero no necesariamente del eje hipofisario-córticoadrenal, responsable de la secreción de cortisol. El cortisol puede aumentar la excreción urinaria de calcio al competir con la aldosterona a nivel intracelular renal. Además, se ha demostrado que animales sometidos a estrés continuo presentan alteraciones metabólicas urinarias favorecedoras de la formación de litiasis oxalocálcica.

2 Hipótesis y objetivos

A nivel somático, el estrés crónico puede causar hipertensión esencial, cúmulo de grasa a nivel visceral secundaria a un hipercortisolismo crónico y a una hipersecreción insulínica secundaria, obesidad, dislipemia y aumento de la frecuencia del síndrome metabólico. Todos éstos, son factores que están a su vez relacionados con la litiasis oxalocálcica.

El estrés crónico o mantenido, de la misma forma que la litiasis, es un estado producido por la interacción de diferentes factores. Además de los acontecimientos estresantes vividos a lo largo de la vida, debe de considerarse cómo son percibidos, qué impacto emocional positivo o negativo se deriva de dicha percepción, así como la respuesta fisiológica desencadenada en el individuo. Por ello, la evaluación completa del estrés crónico debería contemplar un análisis diferenciado de los hechos vitales, el estrés percibido, el impacto afectivo y el agotamiento emocional que, en el caso de que se demostrara una relación con los episodios de litiasis, permitiría elaborar estrategias preventivas específicas, al incidir sobre los aspectos del estrés con más peso en la litiasis oxalocálcica. Mediante la utilización de diferentes cuestionarios psicológicos, que evalúan cada una de estas áreas descritas, puede establecerse cuándo una persona está sometida a una situación de estrés crónico y en qué grado, y así poder detectar posibles diferencias en la influencia de este factor entre los pacientes litiásicos y los controles.

2.2. Hipótesis

Nuestra hipótesis de trabajo es que el estrés crónico altera los parámetros promotores y/o protectores de la litiasis renal oxalocálcica favoreciendo su aparición. Como consecuencia, las alteraciones bioquímicas detectadas en los pacientes sometidos a estrés crónico deben reflejar la mayor incidencia de litiasis renal oxalocálcica.

2.3. Objetivos

Los objetivos que se plantean en este estudio son los siguientes:

1. Analizar la relación entre estrés crónico y litiasis oxalocálcica sintomática.
2. Analizar los cuestionarios que evalúan el estrés crónico (el número e intensidad percibida de los acontecimientos vitales estresantes, el estrés percibido, la ansiedad y depresión, el agotamiento emocional y la satisfacción con la vida), en los pacientes con litiasis oxalocálcica sintomática, recurrentes e incidentes, y sus controles.
3. Analizar si los cuestionarios utilizados para evaluar el estrés crónico se asocian a modificaciones del cortisol plasmático, y en qué dirección, en los pacientes litiásicos sintomáticos y sus controles.
4. Analizar si los cuestionarios utilizados para evaluar el estrés crónico, se asocian a modificaciones de los parámetros urinarios litógenos, y en qué dirección, tanto en los pacientes litiásicos como en sus controles.
5. Analizar la relación entre: antecedentes epidemiológicos, dieta e ingesta de líquidos, o presencia de síndrome metabólico, y la litiasis oxalocálcica.
6. Analizar la relación entre el nivel socioeconómico y la litiasis oxalocálcica.

3 Material y métodos

3.1. Diseño del estudio

Se trata de un estudio de casos y controles apareados, llevado a cabo en la población de la área sanitaria de influencia del Servicio de Urología del Hospital Germans Trias y Pujol (Barcelonés Nord y Maresme), durante un período de 21 meses (entre Mayo de 2008 hasta Febrero de 2010).

3.2. Definición de la muestra

Se incluyeron en el estudio 128 pacientes: 64 casos y 64 controles.

Los *casos* debían ser pacientes litiásicos oxalocálcicos, reclutados entre 2 y 3 tres meses después del último episodio litiásico. En función de si se trataba de un primer episodio litiásico o de un nuevo episodio, en un paciente con antecedentes de litiasis, se crearon dos grupos de casos:

1. Grupo *de casos incidentes* : pacientes con un primer episodio de litiasis y con análisis del cálculo confirmatorio de cálculo de oxalato cálcico.
2. Grupo de *casos recurrentes*: pacientes con historia previa de litiasis que presentaban un nuevo episodio litiásico, con análisis del cálculo confirmatorio de oxalato cálcico.

Los *controles* debían ser individuos sanos, sin historia previa de litiasis, acompañantes de pacientes atendidos en el Servicio de Urología y pertenecientes a su área de influencia. Los controles fueron apareados 1:1 con los casos por edad y sexo. En función de si era un control de un caso incidente o de un caso recurrente, se crearon dos nuevos grupos, un grupo de controles de incidentes y un grupo de controles de recurrentes.

En los cuatro grupos se valoraron los antecedentes personales, familiares, dietéticos, bioquímicos y hormonales. Así mismo, se evaluó el grado de estrés crónico mediante cuestionarios psicológicos, que describimos posteriormente.

3.2.1. Criterios de selección

3.2.1.1. Casos

- Criterios de inclusión

1. Litiásicos oxalocálcicos, no tratados previamente, atendidos en urgencias o consultas externas de urología del Hospital Germans Trias y Pujol y reclutados de 2 a 3 meses después del último episodio litiásico.
2. Lugar nacimiento: España
3. Raza: caucásica.
4. Región: Barcelonés Nord y Maresme

- Criterios de exclusión

1. Menores de edad: <18 años
2. Embarazo
3. Úlcera duodenal o gástrica
4. Enfermedad grave

3 Material y métodos

5. Osteoporosis o su tratamiento
6. Obesidad mórbida ($\text{IMC} > 40 \text{ kg/m}^2$) ó cirugía bariátrica previa
7. Patología urinaria asociada: cualquiera que produjera ectasia de la vía, monorroño, trasplantado, derivaciones y sustituciones urinarias
8. Historia psiquiátrica ó tratamiento psiquiátrico actual
9. Medicaciones potencialmente litógenas
10. Cálculo no analizado

3.2.1.2. Controles

- Criterios de inclusión

1. Individuos sanos, sin historia previa de litiasis, acompañantes de pacientes atendidos en el Servicio de Urología por causas no litiásicas y pertenecientes a su área de influencia.
2. Individuos que en caso de presentar litiasis sintomática serían atendidos por el servicio de urología al pertenecer al área de influencia de este servicio.
3. Lugar de nacimiento: España
4. Raza: caucásica
5. Región de procedencia: Barcelonés Nord y Maresme

- Criterios de exclusión

1. Menor de edad: <18 años
2. Embarazo
3. Úlcera duodenal o gástrica
4. Enfermedad grave

5. Osteoporosis o su tratamiento
6. Obesidad mórbida (IMC > 40 kg/m²) ó cirugía bariátrica previa
7. Historia psiquiátrica o tratamiento psiquiátrico actual
8. Patología urinaria asociada: cualquiera que produjera ectasia de la vía, monorroreno, trasplantado, derivaciones y sustituciones urinarias
9. Medicaciones potencialmente litógenas
10. Litiasis urinaria sintomática o asintomática (ecografía confirmativa de litiasis)

3.3. Intervenciones

3.3.1. Visita inicial: exploraciones, análisis, documentos y codificación previa antes de incluir un paciente en el estudio

Todos los casos y controles debían cumplir los criterios de inclusión detallados en el anterior apartado. Para poder cumplir estos criterios era imprescindible realizar las siguientes exploraciones:

3.3.1.1. Análisis del cálculo

En el supuesto de un caso, debíamos disponer del análisis del cálculo expulsado, ya sea espontáneamente o después de cualquier maniobra urológica, confirmatorio de litiasis oxalocálica.

El análisis del cálculo fue realizado en el laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital Germans Trias i Pujol, siempre por el mismo Facultativo especialista en Bioquímica

mediante: inspección visual, cristalografía óptica con lupa episcópica y espectrografía de infrarrojos.

- Análisis organoléptico:

A la llegada del cálculo entero o los fragmentos expulsados, se procedía a la limpieza de restos sanguíneos o de tejidos de los mismos con solución salina, secándolo posteriormente con papel de filtro.

Se observaba visualmente el aspecto de la superficie, forma, tamaño, color, dureza y el número de cálculos de la muestra remitida.

- Cristalografía con lupa episcópica:

Para el examen con luz episcópica, una vez realizado el análisis organoléptico, se seccionaba el cálculo en dos mitades a lo largo de un plano lo más cercano posible a su centro geométrico, para así determinar su estructura macroscópica interna .

Con la lupa episcópica, se observaba si existía una estructura interna distinta a la observada en el análisis macroscópico, de tal modo que se determinó cuáles eran los distintos cristales que componían el cálculo.

- Espectrografía de infrarrojos:

El espectrógrafo utilizado fué el Spectrum Bx Perkin Elmer (®).

Para su preparación, se trituraba el cálculo en un mortero hasta la obtención de polvo homogéneo. Se verificaba y controlaba el correcto funcionamiento del espectrómetro mediante un blanco y se colocaba la muestra sobre el cristal de cuarzo, previamente limpiado con alcohol etílico, donde se realizaba la lectura. Posteriormente se visualizaba el espectro obtenido y se cotejaba el resultado en una librería de espectros de cálculos urinarios para posteriormente informar de la composición del cálculo.

3.3.1.2. Ecografía renal

Dentro de los criterios de exclusión de un control, estaba el presentar litiasis incidental en ecografía (litiasis asintomática). Se descartaba esta entidad mediante ecografía renal. Dicha ecografía, debía realizarse antes de incluir un control en el estudio.

La exploración se realizaba en consultas externas del servicio de Urología del Hospital Germans Trias i Pujol y era practicada siempre por los mismos facultativos.

La ecografía se realizó mediante el transductor abdominal modelo CH4-1 de 2 MHz del ecógrafo Siemens Sonolines Antares (®). En ella se informó de la presencia o ausencia de litiasis, así como anomalías renales no conocidas previamente. Los cálculos fueron diagnosticados por ecografía al observarse cualquier imagen hiperrefringente con sombra acústica posterior en la unidad renal.

3.3.1.3. Consentimiento informado

Los pacientes que cumplían los criterios de inclusión y que aceptaban entrar en el estudio debían firmar el documento de consentimiento informado aprobado por el Comité Ético y de Investigación del Hospital Germans Trias i Pujol (Apéndice A.1.1).

3.3.1.4. Formulario de selección

El investigador principal debía completar el formulario de selección de caso o control (Apéndice A.1.2 y A.1.3). En estos formularios constaban los siguientes datos personales:

- Nombre y apellidos del paciente
- Dirección
- Número de teléfono
- Fecha de nacimiento

- Edad en el momento del estudio
- Sexo
- Fecha de visita de inclusión en el estudio
- Número de historial médico
- Motivo de consulta
- Médico consultor
- Determinación de elegibilidad (Si/No)

3.3.1.5. Codificación de casos y controles

Cada paciente incluido en el estudio recibía un número de identificación (ID), para el posterior tratamiento de los datos. Los datos eran confidenciales, de modo que sólo los investigadores principales conocían el nombre y apellidos de los pacientes y el número de identificación con el que se asociaba cada uno.

El ID se componía de 7 dígitos y se obtenía a partir del siguiente sistema de codificación:

- Los dos primeros dígitos correspondían al centro de procedencia y grupo (recurrente versus incidente):
 - 01 Grupo recurrente. Hospital Germans Trias i Pujol (HUGTiP).
 - 03 Grupo incidente. Hospital Germans Trias i Pujol (HUGTiP)

En este estudio utilizamos sólo las codificaciones 01 y 03 al analizar los pacientes de una misma zona de procedencia.

- Los dos siguientes dígitos diferenciaban si se trataba de un caso o un control, de modo que:
 - 01 Caso
 - 02 Control

3 Material y métodos

- Los tres últimos dígitos correspondían al número de paciente.

Así, finalmente obteníamos el ID como en los siguientes ejemplos:

- 01-01-012 Caso recurrente procedente del HUGTiP número 12
- 01-02-012 Control de caso recurrente procedente del HUGTi P número 12
- 03-01-007 Caso incidente procedente del HUGTiP número 7
- 03-02-007 Control de caso incidente procedente del HUGTiP número 7

3.3.2. Segunda visita: variables e instrumentos

Una vez cumplidos los requisitos para entrar en el estudio se administraban los cuestionarios psicológicos, el cuestionario alimentario y el cuestionario de actividad física y laboral. Dichos cuestionarios eran administrados siempre por la misma entrevistadora, con experiencia en la monitorización de estudios clínicos, que ayudaba en el caso de que surgiera alguna duda y supervisaba la correcta cumplimentación de los mismos.

3.3.2.1. Antecedentes personales

El paciente era interrogado mediante entrevista personal sobre los siguientes aspectos (Apéndice A.2):

- Antecedentes familiares de litiasis
- Hábitos tóxicos
- Antecedentes de: hiperglucemia, hipercolesterolemia, hipertensión arterial, hiperuricemia y enfermedad coronaria
- Fármacos actuales y fecha de inicio de los mismos
- Peso, talla, tensión arterial y perímetro abdominal

- Edad de inicio de la enfermedad litiásica
- Número de cálculos expulsados (sólo en los casos recidivantes)
- Número de actuaciones urológicas y tipo (sólo en los casos).

3.3.2.2. Datos demográficos y nivel socio económico

Los datos demográficos como el estado civil, lugar de nacimiento, nivel de estudios, situación laboral y situación económica se recogían en el cuestionario auto-respuesta realizado *ad hoc* de 7 preguntas, que se administraba a todos los pacientes incluidos en el estudio. Cada pregunta generaba una respuesta cualitativa que se evaluaba por separado (Apéndice A.3).

3.3.2.3. Valoración psicológica. Instrumentos de medida

El estado psicológico del paciente se evaluó mediante cuestionarios seleccionados por el Grupo de Investigación en Estrés y Salud de la Facultad de Psicología de la Universidad Autónoma de Barcelona.

Este Grupo, acredita una larga experiencia en investigación en el campo de la Psicología de la Salud. Su objetivo principal es la investigación del impacto del estrés en la salud, la calidad de vida y el desarrollo de diferentes enfermedades siendo su especialidad es el desarrollo de instrumentos fiables de medida de los factores psicológicos implicados en la salud y la atención sanitaria [165].

Dada la necesidad de evaluar el estrés crónico desde una perspectiva multidimensional, se distribuyeron 6 cuestionarios auto-respuesta.

La relación de los cuestionarios utilizados, según la esfera que analizaban, fue la siguiente:

Estrés

- *Acontecimientos vitales estresantes*

El cuestionario que analizaba este tipo de acontecimientos es el de la *Escala General de Apreciación del Estrés (EAE-G)* de J. L. Fernández Seara y N. Mielgo Robles (1992). Consiste en una escala de 53 ítem (+ 1 genérico) que valora los acontecimientos estresantes vitales, con tres parámetros de medida: presencia/no presencia, intensidad (en una escala del 0 al 3), y presencia actual de la afectación. La fiabilidad de la escala es de $\alpha = 0,74$ [166].

Para nuestro estudio se crearon dos variables cuantitativas a partir de este cuestionario. Una que valoraba el número de acontecimientos vitales estresantes vividos (Estrés 1A) y otra que valoraba la intensidad percibida de estos acontecimientos (Estrés 1B).

En el caso de “Estrés 1A” se sumaron las respuestas afirmativas, con un rango de puntuación posible entre 0 y 54. Para obtener el valor de la variable “Estrés 1B” se sumaron el valor de la intensidad (que oscila del 0 al 3) de las respuestas afirmativas, con un rango de puntuación final posible de 0 a 162 (Apéndice A.5.1).

- *Estrés percibido en el último mes*

Se evaluó mediante la versión corta del *Perceived Stress Scale (PSS)* de Cohen, Kamarck y Mermelstein (1983) adaptado al español según Remor. Consiste en una escala 14 ítem, valorados del 0 al 4, que evalúa el estrés percibido durante el último mes y que tiene una fiabilidad de $\alpha = 0,81$ [167, 168].

A partir de este cuestionario se creó la variable cuantitativa “Estrés 2” que resulta del sumatorio de las puntuaciones de los 14 ítem, oscilando la puntuación final en un rango del 0 al 56 (Apéndice A.5.2).

- *Estrés en relación al episodio litiásico*

Ya que el hecho de haber padecido un episodio litiásico reciente presupone cierto grado

3 Material y métodos

de estrés, para evaluar de forma específica este tipo de estrés creamos un cuestionario *ad hoc* de 5 preguntas, para los casos, que valoraban el aspecto más cognitivo sobre la situación de haber padecido un episodio agudo litiásico.

Se consideró que los casos habían vivido el episodio agudo de litiasis como una experiencia estresante en el caso de que: lo percibieran como una amenaza (por el dolor que provocó, porque les impedía seguir con el ritmo habitual de actividades..), o valoraran negativamente los recursos o la posibilidad de control para evitar la recurrencia. Estos dos aspectos son los llamados, evaluación primaria o de amenaza y evaluación secundaria o de recursos, respectivamente.

De los 5 ítems que componen el cuestionario y que generan respuestas en una escala de 1 a 4, los tres primeros miden la percepción de amenaza, de modo que el valor 3 representa la valoración más amenazante y el valor 1 la menos estresante, y los dos últimos miden la evaluación de recursos, de modo que el valor 2 es la valoración menos estresante y el valor 4 la más estresante.

Para disponer de una valoración cognitiva general (primaria y secundaria), se interpretaron los rangos de las tres primeras preguntas de forma inversa y el resultado final se obtuvo del sumatorio de las 5 preguntas de modo que a mayor puntuación, mayor grado de estrés. El rango de puntuación final posible oscila en una escala de 5 a 20. (Apéndice A.5.3) .

Estado emocional

- *Trastornos afectivos (ansiedad y depresión)*

Dichos trastornos se estudiaron mediante la adaptación española según Tejero y cols. del *Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS)* de Zigmond and Snaith (1983) [169]. Es un instrumento de screening de trastornos afectivos en el contexto hospitalario.

Consta de 14 ítem valorados entre el 0 y el 3 que se agrupan en dos subescalas:

3 Material y métodos

1. Escala de "ansiedad" (HADS-A) : se obtiene a partir del sumatorio de las preguntas impares del cuestionario. El rango de puntuación resultante oscila entre 0 y 21.
2. Escala de "depresión" (HADS-D): se obtiene a partir del sumatorio de las preguntas pares del cuestionario. El rango de puntuación final oscila entre 0 y 21.

También se puede calcular una puntuación total la HADS-T que, en muestras de enfermos no psiquiátricos, tiene una fiabilidad de $\alpha = 0,86$ [170].

Para este estudio utilizamos la escala de ansiedad y depresión, cuyas puntuaciones eran el valor de la variable cuantitativa “Estrés 3-Ansiedad” y “Estrés 3-Depresión” respectivamente (Apéndice A.5.4).

- *Agotamiento emocional y desánimo*

Se utilizó para su medida la adaptación española según Fernández-Castro y cols. del *Burnout Measure (BM) de Pines y Aronson (1998)*. Este cuestionario, mide el agotamiento emocional y desánimo. Consta de 21 ítems que se responden con una escala de 7. La fiabilidad de la escala es de $\alpha = 0,8$ [171] [172].

La variable creada para analizar este cuestionario fue una variable cuantitativa que recibe el nombre de “Estrés 4” resultado del sumatorio de cada ítem, con un rango de puntuación posible de 21 a 147 (Apéndice A.5.5).

Satisfacción con la propia vida

- *Juicio global de satisfacción con la propia vida*

Se utilizó para su medida la adaptación española según Atienza y col. del *Satisfaction with Life Scales (SWLS) de Diener, Emmons, Larsen y Griffin (1985)* [173]. La SWLS es un instrumento breve de cinco ítems, que se evalúan en una escala de 1 a 7, diseñado para medir el juicio global de satisfacción con la propia vida. Los rangos de puntuación

posibles oscilan del 5 al 35. A menor puntuación más insatisfacción con la propia vida [174]. La fiabilidad de la escala es de $\alpha = 0,84$

La variable cuantitativa creada a partir de este cuestionario fue “Estrés 5”. Valores elevados sugieren una mayor satisfacción con la propia vida y vice-versa (Apéndice A.5.6).

3.3.2.4. Dieta

Ya que se trataba de estudiar dos entidades de tipo crónico (litiasis y estrés), la dieta de los participantes del estudio se valoró mediante un cuestionario semi-cuantitativo validado en Estados Unidos por Willet y cols. de 130 preguntas, sobre alimentos y bebidas tomadas durante el último año [175]. El cuestionario registra de forma semi cuantitativa y retrospectiva la ingesta de alimentos en el último mes. Se añade al cuestionario información sobre el tipo de agua ingerida (grifo, embotellada, mineral, con gas) y, en aquellos casos recidivantes, información sobre el posible cambio de hábitos por lo que respecta a la ingesta de agua (Apéndice A.6.1).

La composición de cada alimento ingerido se calculó mediante las tablas de composición de alimentos del CESNID (Centre d’Ensenyament superior de Nutrició i Dietètica) mediante el Programa de cálculo nutricional CESNID 1.0 (Apéndice A.6.2). Ésta es una de las tablas de composición de alimentos con información más completa. Son un instrumento básico de cálculo y se emplean en muchos de los trabajos del sector de la alimentación y la nutrición. Estas tablas incluyen, además de los datos de composición, las recetas utilizadas en los cálculos (por ejemplo, para el flan de huevo: 1.000 ml de leche entera, 350 g de azúcar, 500 g de huevos, piel de limón/naranja y canela); tablas de porciones de alimentos y densidades de alimentos líquidos. Son especialmente útiles para la estimación de la ingesta de nutrientes en individuos y poblaciones. Así, se obtuvo un listado de los 33 nutrientes más la energía media diaria de cada paciente incluido en el estudio [176].

3.3.2.5. Actividad física y laboral

Se valoró mediante un cuestionario *ad hoc* auto-administrado. En el cuestionario de actividad física se registró la actividad física durante la jornada laboral y la realizada durante tiempo de ocio con el objetivo de detectar aquellos pacientes que no practican ningún tipo de ejercicio y que por lo tanto son sedentarios (Apéndice A.7.1 y A.7.2).

En el cuestionario laboral se registró también la exposición a tóxicos, así como el trabajo realizado a altas temperaturas (Apéndice A.8).

3.3.2.6. Criterios de síndrome metabólico

Los criterios utilizados para la definición de síndrome metabólico en nuestra población fueron los propuestos por la “American Heart Association” y la “National Heart, Lung, and Blood Institute” en 2005 [177].

La medida del perímetro abdominal y de la tensión arterial fue siempre realizada por una de las enfermeras de las consultas externas de Urología de nuestro centro. El valor de tensión arterial se obtuvo de la media de 3 determinaciones tomadas en intervalos de 5 minutos cada una. Los niveles de triglicéridos, colesterol y glucosa sanguíneos corresponden a los de las determinaciones analíticas realizadas para el estudio que se comentan posteriormente (Apéndice A.4).

3.3.2.7. Parámetros analíticos

Los parámetros analíticos se determinaron en sangre y en orina.

Sanguíneos La extracción de muestra se realizaba a primera hora de la mañana (7.30 h) de un día laborable y en ayunas, por el personal de enfermería del departamento de extracciones del servicio de Análisis Clínicos del Hospital Germans Trias y Pujol. De las

3 Material y métodos

muestras extraídas se practicaba un hemograma y un análisis bioquímico en el que se determinaban los niveles de:

- Hemograma

Hemoglobina, hematíes, hematócrito, plaquetas, leucocitos y recuento manual

- Bioquímica

Glucosa, proteínas, albúmina, urea, creatinina, estimación del filtrado glomerular (mediante la ecuación MDRD-4 IDMS), ácido úrico, calcio, fosfato, magnesio, sodio, potasio, cloro, bilirrubina, fosfatasa alcalina, aspartato-aminotransferasa, alanina-aminotransferasa, triglicéridos, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, parathormona y cortisol.

Urinarios Se recolectaron tres muestras de orina que el paciente obtenía en su domicilio, y que eran entregadas a la vez, en el laboratorio del Servicio de Análisis Clínicos, el mismo día en que se realizaba la extracción sanguínea.

La determinación de los parámetros analíticos en orina se realizó en el departamento de Análisis Clínicos del Hospital Germans Trias y Pujol, a excepción del fitato y pirofosfato que fueron determinados por el Grupo de Técnicas de Separación Química (GTS) de la Universidad Autónoma de Barcelona.

El paciente fue informado de cómo recolectar las muestras de orina, por la entrevistadora o el médico, durante la primera visita y se le entregaron los recipientes necesarios.

Las muestras de orina recolectadas fueron:

- Orina nocturna 1: durante la primera noche, el paciente debía recolectar la orina desde que se acostaba hasta que se levantaba por la mañana e introducirla en un recipiente de 1 litro que contenía ácido clorhídrico (orina acidificada).

3 Material y métodos

- Orina nocturna 2: la noche previa a la extracción (la segunda noche), el paciente debía recolectar la orina en un recipiente de 1 litro, sin acidificar, desde que se acostaba hasta que se levantaba. Al entregar las muestras en el laboratorio, se separaban dos alícuotas de 10 ml cada una con 7 ml de ácido clorhídrico 0,05 M y 3 ml de la muestra de la segunda noche y se congelaban a -4 y -10 °C para ser procesadas en un plazo inferior a 15 días en el centro GTS.
- Orina de 2 horas: recogida a las dos horas de la última micción de la segunda noche. Se almacenaba en un frasco de 20 ml.

De estas muestras se analizaron los siguientes parámetros urinarios:

- Oxaluria: a partir de la orina nocturna acidificada.
- Volumen, creatinina, calcio, cociente calcio/creatinina, fosfato, cociente fosfato/creatinina, magnesio, cociente magnesio/creatinina, ácido úrico, cociente ác.úrico/creatinina, citrato, fitato y pirofosfato: todos ellos determinados en la orina nocturna no acidificada.
- pH: determinado en la orina de las 2 horas.

3.4. Análisis de los datos

Los datos fueron introducidos en una base de datos creada mediante el programa de Microsoft Office Access 2007. Posteriormente, una vez exportados los datos, la edición y análisis de éstos se realizó mediante la versión 9.2 del paquete SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

3.4.1. Análisis descriptivo

La descripción de las variables se realizó mediante proporciones para las variables cualitativas, y mediante parámetros de tendencia central, como la media y mediana, y parámetros de dispersión como el rango y la desviación estándar para las variables cuantitativas. En la presentación de esta memoria, se decidió exponer los valores de las variables en forma de proporciones, medianas y rango.

Se describieron por orden los antecedentes sociodemográficos, el nivel socioeconómico, el estado psicológico, los resultados analíticos (excepto los del hemograma) y los parámetros dietéticos de la muestra. Dentro de los antecedentes sociodemográficos se incluyeron también la descripción de la actividad física y laboral, la exposición a altas temperaturas y la presencia de síndrome metabólico. El análisis descriptivo del estado psicológico de los pacientes del estudio se realizó con las variables categorizadas.

3.4.2. Análisis univariado

Los grupos considerados en este análisis han sido:

1. *Población total* : entre todos los casos y controles del estudio.
2. *Población recurrente*: entre los casos recurrentes y sus controles apareados.
3. *Población incidente*: entre los casos incidentes y sus controles apareados.
4. *Casos*: entre los casos incidentes y recurrentes .

Para el análisis univariado, de la población total, la población recurrente y la población incidente, se utilizó un modelo mixto lineal generalizado univariado con un intercepto aleatorio para cada pareja de casos y controles, ya que no eran datos independientes [178]. La variable dependiente de estos modelos era la que definía si el participante era un caso o un control y la independiente, el nivel de estrés. Para cada variable que podía

3 Material y métodos

estar relacionada con la enfermedad, se estimó mediante el correspondiente modelo mixto, la Odds Ratio (OR), su intervalo de confianza del 95 % y el valor de p bilateral. Todos los valores de p se estimaron mediante pruebas estadísticas bilaterales (dos colas) y un valor inferior al 0,05 se consideró que indicaba significación estadística. Los valores de p entre 0,05 y 0,1 se consideraron como “ marginalmente significativos” (MS).

Para el análisis univariado de la población de casos, al tratarse de datos independientes, la comparación de proporciones se realizó mediante las pruebas convencionales de Chi^2 o el test exacto de Fisher si el número de casos esperados era menor de 5. Dado que la mayoría de veces las variables numéricas no presentaban una distribución normal, las medianas se compararon con las pruebas no paramétricas de Wilcoxon o de Kruskal-Wallis. También, para cada variable, se estimó la OR, su intervalo de confianza del 95 %, y el valor de p bilateral, mediante regresión logística convencional. Todos los valores de p se estimaron mediante pruebas estadísticas bilaterales (dos colas) y un valor inferior al 0,05 se consideró que indicaba significación estadística. Los valores de p entre 0,05 y 0,1 se consideraron como “ marginalmente significativos” (MS).

La exposición de los resultados de este análisis en todos los grupos fué, por orden: los antecedentes sociodemográficos (en el que se incluye también la actividad física y laboral, la presencia de síndrome metabólico y el nivel socioeconómico), la valoración psicológica, los resultados analíticos (a excepción de los resultados del hemograma) y la evaluación dietética. Además, se representaron mediante diagramas de barras aquellos resultados que resultaron estadísticamente significativos.

Para estudiar las relaciones del cortisol, parathormona y los parámetros urinarios analizados entre los distintos cuestionarios que evalúan de forma conjunta el estrés crónico, se practicó un análisis de regresión lineal simple. Para cada relación, se estimó el valor de p bilateral (dos colas). Un valor de p inferior al 0,05 se consideró que indicaba significación estadística y valores de p entre 0,05 y 0,1 se consideraron como marginalmente signifi-

cativos. En el apartado de resultados se muestran todas aquellas variables con valores de p resultantes de este análisis, menores de 0,1.

3.4.3. Análisis multivariado

Para estimar la asociación entre el estrés y la litiasis ajustada por los múltiples factores de confusión identificados, se utilizaron modelos mixtos lineales multivariados [179], en los que la variable grupo (caso o control) se utilizó como variable dependiente de la regresión y la identificación de las parejas se introdujo como un efecto aleatorio. Estos modelos también permitieron evaluar la existencia de variables que modificaban el efecto (interacción). La ventaja de estos modelos mixtos sobre la regresión logística condicional, es que en los primeros no existe pérdida de información por la parejas concordantes o por la incompletas [178].

En estos modelos, los eventuales factores de confusión o modificadores del efecto se introdujeron como covariables. Se escogieron como posibles factores de confusión o modificadores del efecto, todas aquellas variables que en el análisis univariado presentaban un valor de p bilateral inferior o igual a 0,10 o aquellas que eran clínicamente relevantes.

3.5. Limitaciones del estudio

Existen diferentes fuentes de sesgos que, si no se tienen en cuenta, podían potencialmente limitar la interpretación de los resultados del estudio propuesto.

3.5.1. Sesgos de selección:

1. Al tratarse de un estudio realizado con población hospitalaria, los casos reclutados no son representativos de los casos de litiasis en la comunidad ya que los casos de

3 Material y métodos

litiasis remitidos al hospital pueden diferir respecto a los comunitarios en la severidad y duración de la enfermedad. Sin embargo, el objetivo del estudio era evaluar el posible efecto del estrés crónico sobre el riesgo de litiasis renal comparando casos hospitalarios con controles hospitalarios. Aunque las características de los casos y controles hallados en este estudio se debían generalizar con precaución, la comparación de los antecedentes de estrés entre los casos y controles era biológicamente válida ya que los casos y los controles se seleccionaron de forma que ambos grupos estaban sujetos al mismo sesgo de selección.

2. En un estudio de casos y controles con controles hospitalarios, el sesgo de selección más importante es el que puede aparecer si la distribución de la exposición estudiada (grado de estrés) en los controles es diferente que en la población que ha originado los casos. Es decir, si el nivel de estrés estuviera asociado con la probabilidad de ser elegido como control [180]. Para evitar este problema, se seleccionaron los casos y los controles de la misma forma, a fin de compensar la falta de representatividad de los casos respecto a los factores de exposición estudiados. Con esto se garantizó: - Que los controles tuvieran un patrón de derivación hospitalaria similar al de los casos. - Que el grado de estrés no variara la probabilidad de ser elegido como control. - Que si un control fuese caso, sería elegible para el estudio. - Al incluirse como controles a pacientes con diferentes patologías, se minimizó el sesgo potencial si alguna de ellas estaba relacionada con la exposición.
3. Se incluyeron en el estudio los casos de litiasis sintomáticos que podían ser diferentes de los asintomáticos. Sin embargo esta diferencia no invalidaba la comparación entre los participantes con y sin litiasis, ya que los controles con litiasis asintomática eran excluidos del estudio.
4. Muy probablemente la exposición esté asociada a la mortalidad. Esto podría disminuir o incluso invertir la asociación entre el nivel de estrés y la litiasis sintomática

causando el llamado sesgo de supervivencia. Para evitar este sesgo, se estudió también un subgrupo en el que sólo se compararon los casos incidentes.

3.5.2. Sesgos de información:

1. Cómo exposición principal se evaluó el nivel de estrés crónico que presentaba el paciente en el momento de la entrevista. Para evitar que este nivel estuviera influido por el dolor del episodio litiásico que motivó el ingreso en el estudio, los pacientes se reclutaron después de haber transcurrido más de 2 meses y menos de 3 desde la expulsión del cálculo.
2. Para evitar que la recogida de la información fuera diferente en los casos y en los controles, la persona que realizó las entrevistas desconocía a que grupo pertenecía el entrevistado. Tampoco tenían acceso a esta información el grupo de psicólogos que evaluaban el grado de los antecedentes de estrés ni los facultativos que realizaban las diferentes analíticas.