

VARIACIONES PROTEICAS, LIPÍDICAS, GLUCÍDICAS Y DE LAS HORMONAS INSULINA Y CORTISOL EN INDIVIDUOS UROLITIÁSICOS EN RELACIÓN A LA EDAD Y AL SEXO

PROTEIC, LIPIDIC, GLUCIDIC AND INSULINE AND CORTISOL HORMONES VARIATIONS IN UROLITHIASIC INDIVIDUALS REGARDING SEX AND AGE

ROSELYS GÓMEZ, WILLIAM VELÁSQUEZ, AMÉRICA VARGAS, HENRY DE FREITAS, MEUCAR VILLARROEL Y ARELIS HERNÁNDEZ.

Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Escuela de Ciencias, Departamento de Bioanálisis.

RESUMEN

La urolitiasis resulta de una serie de alteraciones metabólicas que le otorgan el carácter multifactorial a la etiología de esta patología renal. Por esta razón se realizó el presente estudio cuyo objetivo fue evaluar las variaciones proteicas, lipídicas, glucídicas y de las hormonas insulina y cortisol en individuos urolitiásicos provenientes de la consulta de Urología del Servicio Autónomo Hospital Universitario "Antonio Patricio de Alcalá" (SAHUAPA) de la ciudad de Cumaná. Para ello se analizaron 30 muestras séricas de pacientes urolitiásicos, masculinos y femeninos, con edades comprendidas entre 15 y 60 años, y se determinaron las concentraciones de proteínas totales, colesterol, triglicéridos y glucosa, por procedimiento espectro-colorimétrico, insulina, por ensayo de electroquimioluminiscencia, y cortisol, por método inmunoenzimático. El análisis estadístico empleado fue la prueba ANOVA multifactorial para establecer las diferencias de las concentraciones medias de los parámetros cuantificados en relación a la edad y al sexo de los pacientes. Se observaron diferencias muy significativas en el colesterol de acuerdo a la edad y al sexo, significativas en la glucosa atendiendo a la edad y en la insulina en relación al sexo. Todo lo antes descrito permite deducir que la edad y el sexo son variables epidemiológicas que condicionan alteraciones glucídicas, lipídicas y hormonales en la urolitiasis.

PALABRAS CLAVE: Urolitiasis, colesterol, insulina.

ABSTRACT

Urolithiasis is caused by a series of metabolic alterations which gives it the multifactorial character to the etiology of this renal pathology. For this reason, this research was carried out with the goal of evaluating proteic, lipidic, glucidic and insulin and cortisol hormone variations in urolithiasic patients from the urology medical examination at Servicio Autónomo Hospital Universitario "Antonio Patricio de Alcalá" (SAHUAPA) in the city of Cumaná. With that in mind, thirty serum samples from urolithiasic patients of both sexes, ages ranging between 15 and 60 were analyzed. Total protein, cholesterol, triglycerides and glucose concentrations were determined by spectrophotometric procedures; insulin concentration was determined by electrochemoluminescence assay, and cortisol concentration by immunoenzymatic method. The statistical analysis employed was the multifactorial ANOVA test to establish mean concentration differences of parameters quantified regarding the sex and age of the patients. Very significant differences were observed in cholesterol according to sex and age, significant in glucose depending on age and in insulin in relation to sex. What has been previously described allows conclude that age and sex are epidemiological variables conditioning glucidic, lipidic and hormonal alterations in urolithiasis.

KEY WORDS: Urolithiasic, cholesterol, insulin.

INTRODUCCIÓN

La urolitiasis es una patología que se caracteriza por la precipitación de cristales en el tracto urinario debido a la sobresaturación de los componentes de la orina final, los cuales se van alojando a lo largo del sistema renal, provocando en algunos casos, la obstrucción de las vías de eliminación y la retención a nivel sanguíneo de los productos de desecho (Velásquez y col., 2000).

Los pacientes urolitiásicos cursan con aumento en la concentración sérica de glucosa debido a anomalías

celulares relacionadas con un daño en la translocación del fósforo y la glucosa a través de las membranas celulares ocasionando una menor capacidad de transporte de glucosa a las células (Schwille y col., 2003).

El cortisol, hormona glucocorticoide secretada por la corteza de la glándula suprarrenal, favorece el proceso urolitiásico al producir aumento de la concentración de ácido úrico sérico que promueve su sobresaturación en orina y provoca calculosis úrica (Hart y Newton, 1987; Faggiano y col., 2003).

La obesidad es considerada un factor predisponente para el desarrollo de calculosis urinaria. Diversos estudios, realizados en individuos urolitiásicos, reflejan que la tasa de obesidad es significativamente elevada, principalmente en el sexo masculino, y en los formadores recurrentes de cálculos (Nishio y col., 1998). Estudios realizados por Powell y col. (2000), Moe y col. (2005), Massey y col. (2005) y Thamilselvan y Menon (2005) demostraron que los pacientes obesos presentan un aumento en la excreción urinaria de sodio, calcio, magnesio, citrato, ácido úrico y oxalato, que favorecen la formación de cálculos renales.

Bilovrob y col. (1991) evaluaron los niveles de proteinuria en pacientes urolitiásicos, encontrándose en individuos con nefrolitiasis de oxalatos y uratos, proteinuria menos pronunciada que en aquellos que presentan calculosis de fosfatos. Estas observaciones sugieren que los individuos con calculosis urinaria presentan niveles de proteinuria variables dependiendo del tipo de concreción.

Las elevadas concentraciones séricas de glucosa, triglicéridos, colesterol y de la actividad enzimática de la lipasa encontradas en individuos urolitiásicos permiten inferir que los trastornos metabólicos glucídico y lipídico están relacionados con la urolitiasis (Acuña y col., 2000).

La litiasis urinaria resulta de una serie de alteraciones metabólicas que le otorgan el carácter de multifactorial a la etiología de esta patología, lo cual constituye la base para la realización del presente estudio que tiene por finalidad evaluar las variaciones proteicas, lipídicas, glucídicas y de las hormonas insulina y cortisol en individuos urolitiásicos en relación a la edad y al sexo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio fue realizado en 30 individuos urolitiásicos, masculinos y femeninos, con edades comprendidas entre 15 a 60 años procedentes de la consulta de Urología del Servicio Autónomo Hospital Universitario "Antonio Patricio de Alcalá" (SAHUAPA) de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. Se excluyeron de este estudio todos aquellos individuos con patologías metabólicas como diabetes mellitus y cualquier anomalía endocrina que altere la secreción hormonal.

Procesamiento de las muestras:

A cada uno de los individuos urolitiásicos, se les extrajo una muestra de 8ml de sangre completa por

punción venosa, que posteriormente fue colocada en un tubo de ensayo estéril sin anticoagulante. Luego de 20 a 30 minutos en reposo, fueron centrifugadas las muestras a 3000 rpm durante 10 minutos para la obtención de los respectivos sueros sanguíneos que fueron empleados para la determinación de las concentraciones de las hormonas cortisol e insulina y de los parámetros glucosa, proteínas, colesterol y triglicéridos.

Técnicas utilizadas:

Determinación de Proteínas

Este parámetro fue determinado por el método de Biuret cuyo principio consiste en la reacción que experimentan las proteínas, por sus uniones peptídicas, con los iones cúpricos presentes en el reactivo de Biuret; cada ión cobre se une a la cadena polipeptídica por 4 enlaces de coordinación aportados por pares electrónicos libres de átomos de nitrógeno para dar lugar a la formación de un complejo color violeta con un máximo de absorción a 540 nm, cuya intensidad es proporcional a la concentración de proteínas totales en la muestra (Doumas y col., 1981).

Valores de referencia (Balcells, 1997): 6,3 – 8,5 g/dl.

Determinación de Albúmina

Para la cuantificación de esta fracción proteica se aplicó el método del verde de bromocresol cuyo principio consiste en la reacción que experimenta la albúmina cuando se une al indicador verde de bromocresol a un pH ácido adecuado para formar un complejo coloreado, cuya intensidad, a 540 nm, es proporcional a la concentración de albúmina en la muestra (Kaplan y Pesce, 1991).

Valores de referencia (Bernard, 1994): 3,5 – 5,1 g/dl.

Determinación de Globulinas

La concentración de globulinas se calculó luego de obtener los valores de proteínas séricas totales y albúmina, empleando la fórmula

Globulinas = Proteínas Totales – Albúmina (Kaplan y Pesce, 1991).

Determinación de Colesterol

La cuantificación de este compuesto se realizó a través del método de la colesterol esterasa cuyo principio consiste

en la hidrólisis del colesterol esterificado, por acción de la enzima colesterol esterasa, para producir colesterol libre y ácidos grasos. El colesterol libre es oxidado por la colesterol oxidasa, con producción de peróxido de hidrógeno, en presencia de la 4-aminoantipirina/fenol (4-AAP/fenol), para producir una coloración roja cuya intensidad es proporcional al colesterol total, presente en la muestra, cuando es medido a 520 nm (Bernard, 1994).

Valores de referencia (Bernard, 1994): 150 – 240 mg/dl.

Determinación de Triglicéridos

Los triglicéridos son hidrolizados por acción de la lipasa microbiana en glicerol y ácidos grasos-libres. En presencia de la glicerol quinasa (GK), el glicerol es fosforilado por adenosina-5-trifosfato (ATP) en glicerol-3-fosfato (G₃P). El G₃P se oxida a fosfato dihidroxiacetona (DAP) en una reacción catalizada por la enzima glicerol fosfato oxidasa (GPO). En la reacción se produce peróxido de hidrógeno el cual oxida al cromógeno, compuesto de sal disódica de n-etilo-n-sulfohidroxipropilo-n-toluidina (TOOS), y 4-aminoantipirina, en presencia de la peroxidasa. El resultado es una coloración roja de quinoneimina, la cual es proporcional a la concentración de triglicéridos en la muestra, cuando es medida a 540 nm (Nagele y Hagele, 1984).

Valores de referencia (Kaplan y Pesce, 1991): 36 – 165 mg/dl.

Determinación de Glucosa

Este parámetro se cuantificó por un método enzimático-colorimétrico basado en la reacción de la glucosa oxidasa que cataliza la oxidación de la glucosa a peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y ácido glucónico, y en la reacción de color Trinder modificada, en presencia de la enzima peroxidasa. La peroxidasa cataliza la oxidación del cromógeno 4-aminoantipirina (4-AAP) e hidroxibenzoato por el H₂O₂ para producir una coloración roja de quinoneimina. La intensidad de color de la reacción, medida a 520 nm, es directamente proporcional a la concentración de glucosa en sangre (Bauer, 1986).

Valores de referencia (Bauer, 1986): 70 – 110 mg/dl.

Determinación de Insulina

La concentración de esta hormona se determinó por el

método de inmunoensayo de electroquimioluminiscencia, el cual se fundamenta en un test competitivo que emplea un anticuerpo monoclonal específico anti-insulina marcado con quelato de rutenio, formando un complejo con la insulina de la muestra. La biotina del complejo se une a la estreptavidina de la fase sólida produciendo la reacción quimioluminiscente. Los resultados se obtienen a partir de una curva de calibración realizada en el sistema mediante una calibración a dos puntos y una curva master incluida en el código de barras del reactivo (Kaplan y Pesce, 1991).

Valores de referencia (Balcells, 1997): 6 - 26 µU/ml.

Determinación de Cortisol

Esta hormona se cuantificó por metodología inmunoenzimática, la cual se fundamenta en la reacción competitiva del cortisol-sustrato cromógeno con el anticuerpo anticortisol. La cantidad de conjugado cortisol-sustrato cromógeno que se une al anticuerpo anticortisol origina una coloración que produce una disminución de la densidad óptica, la cual es directamente proporcional a la concentración de esta hormona (Ogihara y col., 1977).

Valores de referencia (Ogihara y col, 1977): 2,0 – 25,0 µg/dl.

Análisis Estadístico

Los resultados obtenidos en el presente estudio fueron sometidos al análisis estadístico ANOVA multifactorial con la finalidad de conocer las posibles diferencias significativas de las concentraciones medias de los parámetros insulina, cortisol, glucosa, colesterol, triglicéridos y proteínas totales, en relación a la edad y al sexo. La toma de decisión se realizó a un nivel de confiabilidad del 95% (Sokal y Rohlf, 1979).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La agrupación de los individuos urolitiásicos por edad y sexo pareciera homogeneizar los datos de las concentraciones de cortisol (Tabla 1.a) en los individuos con calculosis urinaria y por ende no indica diferencias significativas en las ANOVA dobles realizadas. Sin embargo, otras investigaciones han demostrado que cuando no se discrimina a los urolitiásicos por edad y sexo, y se comparan con un grupo control, sí se destacan diferencias de significación estadística que reflejan los desequilibrios metabólicos que ocasionan el incremento del cortisol y su influencia en la precipitación de cristales

en el tracto renal (Velásquez y col., 2000).

TABLA 1. Análisis de varianza doble aplicada a las concentraciones de cortisol, insulina, triglicéridos, colesterol, glucosa, proteínas totales, albúmina y globulinas en pacientes urolitiásicos, según la edad y el sexo, que asistieron a la consulta de Urología del Servicio Autónomo Hospital Universitario Antonio Patricio de Alcalá, Cumaná, estado Sucre. Cortisol (a)

Fuente de variación	Gl	Sc	Mc	Fs
Cortisol (a)				
Edad	2	137,7479	68,8739	1,40 ns
Sexo	1	10,2892	10,2892	0,21 ns
Error	26	1275,2733	49,0490	
Total	29	1427,3675		
Insulina (b)				
Edad	2	16,0712	8,0356	0,27 ns
Sexo	1	169,3901	169,3601	5,71*
Error	26	856,0545	32,9252	
Total	29	995,8137		
Triglicéridos (c)				
Edad	2	91435,929	45717,965	2,08 ns
Sexo	1	35770,695	35770,695	1,63 ns
Error	26	570718,760	21950,721	
Total	29	749743,470		
Colesterol (d)				
Edad	2	22167,718	11083,859	8,88 **
Sexo	1	14122,366	14122,366	11,31**
Error	26	32463,087	1248,580	
Total	29	61072,167		
Glucosa (e)				
Edad	2	5458,595	2729,298	5,04 *
Sexo	1	12,018	12,018	0,02 ns
Error	26	14079,640	541,525	
Total	29	19949,367		
Proteínas Totales (f)				
Edad	2	0,0251	0,0125	0,01 ns
Sexo	1	1,3601	1,3601	0,83 ns
Error	26	42,4919	1,6343	
Total	29	44,1017		
Albúmina (g)				
Edad	2	2,2741	1,1371	1,33 ns
Sexo	1	1,7725	1,7725	2,07 ns
Error	26	20,5414	0,8559	
Total	29	25,9137		
Globulinas (h)				
Edad	2	0,1370	0,0685	0,07 ns
Sexo	1	0,3667	0,3667	0,36 ns
Error	26	24,3601	1,0150	
Total	29	26,0987		

gl: grados de libertad; Sc: Suma cuadrática; Mc: media cuadrática; Fs: valor experimental de Fisher; ns: no significativo; *: significativo; **: muy significativo.

El análisis de varianza doble aplicado a las

concentraciones de insulina (Tabla 1.b) mostró diferencias significativas en relación al sexo, lo que puede explicarse argumentando que esta patología guarda una relación 4:1 en cuanto al sexo masculino y femenino, y que la insulina asociada a los andrógenos constituye la base de la diferencia de la respuesta, en mujeres y hombres, a la glucosa y a la insulina, como lo demuestran los estudios realizados por (Stout 1994 y Abate y col. 2004).

Los individuos urolitiásicos mantienen una dieta basada esencialmente en productos de origen animal que contienen una gran cantidad de grasas neutras que provocan el aumento de los triglicéridos a nivel sanguíneo (Guyton y Hall, 1997; Acuña y col., 2000). La prueba estadística ANOVA multifactorial no arrojó diferencias significativas al evaluar los triglicéridos en pacientes con calculosis urinaria atendiendo a la edad y al sexo de los mismos (Tabla 1.c), lo cual demuestra que este compuesto no se altera, por lo menos en los individuos estudiados, con el transcurrir de la edad ni con las hormonas sexuales. Estos resultados se contraponen con lo expresado por Lakata (1992) quien señala que los triglicéridos plasmáticos aumentan notablemente con la edad. En los hombres, el incremento se hace significativo desde los 40 años, alcanzando una meseta de los 50 a 60 años e inclusive declinan conforme la edad aumenta, mientras que en las mujeres se observan aumentos de los triglicéridos a partir de los 50 años.

Schmiedl y col. (2000) reportaron que los individuos urolitiásicos cursan con niveles séricos incrementados de colesterol debido a un aumento de las lipoproteínas circulantes, del acetyl-coenzima A o de la hidrólisis de los ésteres de colesterol a través de la colesterol esterasa que participan en la síntesis de colesterol. El análisis estadístico aplicado a los valores medios de la concentración sérica del colesterol de los individuos estudiados, de acuerdo a la edad y al sexo (Tabla 1.d), arrojó diferencias muy significativas en ambos casos. Se puede destacar que las concentraciones promedios mayores se encontraron en el grupo de mujeres urolitiásicas que incluye el rango de edades de 46 a 60 años (Tabla 2.a), lo que indica que probablemente estas mujeres se encuentran en la menopausia, situación que cursa con disminución de los niveles de estrógenos que a su vez disminuyen las concentraciones de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) y aumentan las lipoproteínas de baja densidad (LDL), favoreciendo así el aumento del colesterol total (Sokoll y Dawson, 1995).

El análisis estadístico aplicado al parámetro glucosa en individuos con calculosis urinaria (Tabla 1.e) reveló

diferencias significativas en relación a la edad. Además, se observa la formación de dos grupos, el primero constituido por los pacientes urolitiásicos de grupos etarios 15 - 30 y 31 - 45 años, y el otro formado por los urolitiásicos entre 46 a 60 años (Tabla 2.b). Estos resultados ponen en evidencia que, en estos individuos, los niveles de glucosa aumentan significativamente a partir de los 46 años producto, quizás, de la reducida intolerancia a la glucosa observada al aumentar la edad, debido a que esta última afecta la capacidad del organismo de disponer de manera eficaz de la glucosa motivado a la existencia de factores que incluyen la reducción de la actividad física, obesidad, pérdida de la masa magra, malos hábitos nutricionales y alteraciones en la actividad de la insulina (Reaven y col., 1990).

TABLA 2. Resumen estadístico de los valores de colesterol y glucosa en pacientes urolitiásicos, según la edad, que asistieron a la consulta de Urología del Servicio Autónomo Hospital Universitario Antonio Patricio de Alcalá, Cumaná, estado Sucre.

Colesterol (a)						
Edad	N	Rango	\bar{X}	S	Sx	D
15-30	13	114 237	159,54	36,67	10,17	
31-45	8	162 274	194,50	34,75	12,29	
46-60	9	160 301	209,44	52,44	17,48	
Glucosa (b)						
31-45	8	54 103	86,50	16,79	5,94	
15-30	13	70 112	86,69	11,56	3,21	
46-60	9	79 193	117,11	36,25	12,08	

N: número de muestras; \bar{X} : media; S: desviación estándar; Sx: error estándar; D: Duncan.

Los análisis de varianza doble aplicados a los valores medios de los parámetros proteínas totales, globulinas y albúmina no presentaron diferencias significativas al ser evaluados en individuos urolitiásicos en relación a la edad y al sexo (Tabla 1.f, 1.g, y 1.h). La agrupación de los datos por edad y sexo produjo grupos homogéneos que impiden ver diferencias significativas en la prueba estadística ANOVA multifactorial.

Todo lo antes expuesto pone de manifiesto que la edad y el sexo permiten obtener diferencias significativas en algunos parámetros analizados en el presente estudio tales como colesterol, glucosa e insulina, lo que permite inferir que con el transcurrir de la edad se pueden alterar ciertos mecanismos en los urolitiásicos y servir como factores de riesgo para la litogénesis.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABATE, N.; CHANDALIA, M.; CABO-CHAN, A.; MOE, O. & SAKHAE, K. 2004. The metabolic syndrome en uric acid nephrolithiasis: novel features of renal manifestation of insuline resistance. *Kidney Int.*, 65 (2): 386-392.
- ACUÑA, A.; VELÁSQUEZ, W.; BELMAR, M.; TOVAR, P. Y NARVAEZ, Y. 2000. Variaciones metabólicas en la urolitiasis. *Rev. Fac. Farm. ULA*, 40:133-141.
- BAUER, J. 1986. *Análisis Clínico Métodos e Interpretación*. Editorial Reverté, S.A. Barcelona, España. 1302pp.
- BERNARD, J. 1994. *Diagnóstico y Tratamiento Clínico por el Laboratorio*. Novena edición. Editorial MASSON. 1500pp.
- BILOVROB, V.; MIRONOV, O.; MINAS'IANTS, E.; BILOVROBA, I. & SHUL'GIN, N. 1991. Total urinary protein in different types of nephrolithiasis. *Urol. Nefrol.*, (4):33-37.
- DOUMAS, B.; BAYSE, D. & CARTER, R. 1981. A candidate reference method for determination of total protein serum. *Clin. Chem.*, 27:164.
- FAGGIANO, A.; PAVONELLA, R.; MELIS, D. FILIPELLA, M.; DI SOMMA, C.; PETRETTA, M.; LOMBARDI, G. & COLAO, A. 2003. Nephrolithiasis in Cushing's disease: prevalence, etiopathogenesis, and modification after disease cure. *J Clin Endocrinol Metab.*, 88 (5): 2076-2080.
- GUYTON, A. Y HALL, J. 1997. *Tratado de Fisiología Médica*. Interamericana McGraw-Hill. México. 1262pp.
- HART, J. Y NEWTON, R. 1987. *Endocrinología: Sistema Integrado de Estudio*. Editorial El Manual Moderno, S.A de C.V. México. 328pp.
- KAPLAN, L. Y PESCE, A. 1991. *Química Clínica, Técnicas de Laboratorio, Fisiopatología, métodos de Análisis*. Editorial Médica Panamericana, S.A. México. 1739pp.
- LAKATA, E. 1992. Mechanisms of hypertension in the elderly. *JAMA.*, 264:1015-1018.

- MASSEY, L.; LIEBMAN, M. & KYNAST-GALES, S. 2005. Ascorbate increases human oxaluria and kidney stone risk. *J Nutr.*, 135 (7): 1673-1677.
- MOE, O.; ABATE, N. & SAKHAE, K. 2002. Pathophysiology of uric acid nephrolithiasis. *Endocrinol Metab Clin North Am.*, 31(4) : 895-914.
- NAGELE, U. & HAGELE, E. 1984. Selected methods of clinical chemistry for the small clinical laboratory. *J. Clin. Chem.*, 22:165-174.
- NISHIO, S.; YOKOYAMA, M.; IWATA, H.; TAKEUCHI, M.; KAMEI, O.; SUGAMOTO, T.; SEIKE, Y.; OCHI, K.; KIN, M.; AOKI, K.; NAHESHIMA, S.; TAKEDA, H. & TAKEI, S. 1998. Obesity as one of the risk factors for urolithiasis. *Nip. Hinyok. Gak. Zass.*, 89 (6):573-580.
- POWELL, C.; STROLLER, M.; SCHWARTZ, B.; KANE, C.; GENTLE, D. & LESLIE, S. 2000. Impact of body weight on urinary electrolytes in urinary stone formers. *Urology*, 56 (2):352.
- OGIHARA, T.; MIYAI, K. & NISHIO, K. 1977. Enzyme – labelles immunoassay for plasma cortisol. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 44:(91)-95.
- REAVEN, G., CHEN, N.; HOLLENBECK, C. & CHEN, Y. 1990. Effect of age on glucose tolerance and glucose uptake in healthy individuals. *J.Am.Geriatric.Soc.*, 37:735-740
- SCHMIEDL, A.; SCHWILLE, P.; BONUCCI, E.; ERBEN, R.; GRAYCZYK, A. & SHARMA, V. 2000. Nephrocalcinosis and hyperlipidemia in rats fed a cholesterol-and fat-rich diet: association with hyperoxaluria, altered kidney and bone minerals, and renal tissue phospholipids-calcium interaction. *Urol. Res.*, 28(6):404-415.
- SCHWILLE, P.; HERMANN, V.; SCHMIEDL, A.; KISSLER, H. & WIPLINGER, J. 2003. Postprandial superinsulinemia, insulin resistance and inappropriately high phosphaturia are features of younger males with idiopathic calcium urolithiasis: attenuation by ascorbic acid supplementation of test meal. *Urol. Res.*, 25(1): 49-58.**
- SOKAL, R. Y ROHLF, J. 1979. *Biometría: Principios y Métodos Estadísticos en la Investigación Biológica.* Ediciones Blume. H. Madrid. España. 832pp.
- SOKOLL, L. & DAWSON, B. 1995. Effect of menopause and aging on serum total and ionized calcium and protein concentrations. *Calcif. Tissue. Intl.*, 44:181-185.
- STOUT, R. 1994. Insulin as a mitogenic factor. *Am.J.Med.*, 90:62-65.
- THAMILSELVAN, S. & MENON, M. 2005. Vitamin E therapy prevents hyperoxaluria induced calcium oxalate crystal deposition in the kidney by improving renal tissue antioxidant status. *BJU Int.*, 96(1) : 117-126.
- VELÁSQUEZ, W.; BELMAR, M.; VARGAS, A.; ACUÑA, A.; TOVAR, P. Y BETANCOURT, J. 2000. Asociación hormonal-enzimática en la urolitiasis. *Rev. Fac. Farm. ULA*, 40:115-123.