

Efeito de doses elevadas de vitamina D₃ associada à suplementação de cálcio em modelo experimental de nefrolitíase

Effect of vitamin D₃ overdose and calcium supplementation in experimental nephrolithiasis model

Autores

Maria Fátima de Paula Ramos¹

Luciane Gomes de Santana¹

Clara Versolato Rasvickas¹

Vicente de Paulo Castro Teixeira¹

Nestor Schor¹

¹ Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP).

RESUMO

Introdução: Há poucos dados na literatura sobre a suplementação de vitamina D e cálcio e o desenvolvimento de cálculos renais. **Objetivo:** Avaliar o efeito de doses elevadas de vitamina D₃ (V), com suplemento de cálcio (Ca) no desenvolvimento de litíase em modelo experimental. **Métodos:** Pastilhas foram inseridas na bexiga de ratos, que receberam V com ou sem Ca. Ratos foram divididos em seis grupos: 1. Sham; 2. Controle com pastilha, 3. Controle com V, 4. Pastilha + V, 5. Pastilha + Ca e 6. Pastilha + Ca + V. **Resultados:** Observou-se 50% e 17% de redução na formação de cálculos, respectivamente nos grupos 5 e 6 em comparação ao grupo 2 ($p < 0,005$). Não foram observadas hipercalemia ou hipercaleiúria em todos os grupos. Encontramos no grupo 6 ($p = 0,03$) uma redução significativa na calciúria. **Conclusão:** A administração de V associada com Ca diminuiu significativamente a formação de cálculos e reduziu significativamente a calciúria, sugerindo uma interferência benéfica na fisiopatologia litogênica.

Palavras-chave: 25-hidroxivitamina D 2; deficiência de vitamina D; nefrolitíase; suplementação alimentar; vitamina D.

ABSTRACT

Introduction: There is little information in the literature relating supplementary oral usage of vitamin D and calcium to the development of kidney stones. **Objective:** To evaluate the effect of high dose, 200 IU of vitamin D₃ (V) with calcium supplementation (Ca). **Methods:** Experimental model consists of insertion of pellets into the bladder of rats. V was administered for 30 days with or without Ca. The rats were divided in 6 groups: 1. Sham, 2. Pellets control; 3. V control; 4. Pellets + V; 5. Pellets + Ca and 6. Pellets + Ca + V. **Results:** 50% and 17% decreases bladder stones formation in groups 5 and 6, $p < 0.005$ comparing with the group 2 were observed. There was no hypercalcemia or hypercalciuria in all groups. We observed a significant decrease in calciuria in group 6 ($p = 0.03$). **Conclusion:** The administration of the V associated with Ca significantly decreased the formation of stones and caused a significant reduction in urinary calcium, suggesting a protection in the lithogenic pathophysiology.

Keywords: 25-hydroxyvitamin D 2; nephrolithiasis; vitamin D; vitamin D deficiency.

INTRODUÇÃO

Litíase urinária é um problema universal. Os principais fatores para a formação de cálculos urinários, além da baixa hidratação do organismo são: insuficiência dos inibidores da formação de cálculos como o citrato e o magnésio, alterações do pH urinário e o aumento da concentração urinária de cálcio, que atinge cerca de 50% dos pacientes formadores de cálculos.¹⁻³

O risco de se desenvolver nefrolitíase é de 10% até 25%,⁴⁻⁶ sendo mais comum em homens,⁷ tipicamente entre 30 a 60 anos. Na sexta década de vida, a incidência aumenta na mulher, associada ao aumento de perímetro abdominal, tendendo a uma equivalência em ambos os sexos.⁴ Tem sido documentada a associação de nefrolitíase com síndrome metabólica, ou seja, aumento de peso e aumento do índice de massa corporal (BMI),⁸ hipertensão

Data de submissão: 27/03/2013.

Data de aprovação: 06/12/2013.

Correspondência para:

Nestor Schor.
Disciplina de nefrologia
UNIFESP/EPM.
Rua Botucatu, nº 740. São Paulo,
SP, Brasil. CEP: 04023-900.
Tel: (11) 5573-9652.
E-mail: nestor@nefro.epm.br
FAPESP, CAPES, CNPq e FOR.

DOI: 10.5935/0101-2800.20140022

arterial,^{9,10} *diabetes mellitus*,^{11,12} aterosclerose da artéria carótida,¹³ infarto do miocárdio,^{14,15} cursando com hipocitratúria em 54% e hiperuricosúria em 43%.⁸ Estudos experimentais demonstram que as placas de Randall se formam pela reparação de lesões vasculares, em um processo semelhante à aterosclerose.¹⁶ A turbulência do fluxo sanguíneo na papila renal ocasiona um processo inflamatório agravado pelo aumento da osmolaridade e a hipóxia nesse local, liberando citoquinas e proteínas, que promovem agregação de cristais.¹⁶

Estudos epidemiológicos mostram que pacientes formadores de cálculos (além da síndrome metabólica) também apresentam associação com osteopenia/osteoporose e ainda com hipovitaminose D.¹⁷ Estudos demonstraram que hipovitaminose D foi observada em cerca de 60% a 80% final de inverno.^{18,19} As potenciais causas desta alta prevalência são a falta de exposição ao sol adequada, risco de desenvolvimento de câncer de pele, raça negra, obesidade, idade, institucionalização, gravidez, doenças inflamatórias intestinais, a ingestão pobre dos seus precursores e ao uso de protetor solar, ex: o protetor fator 8 reduz a produção da vitamina D₃ em 95%.²⁰ A pele exposta ao sol é a principal fonte, produzindo 80% a 90% das doses diárias recomendadas, sendo que a exposição quase total do corpo por 2 minutos fornece 10.000 UI de vitamina D, ou exposição da cabeça e pescoço por 20 minutos.²⁰ A necessidade diária de vitamina D₃ em crianças, adolescentes e adultos é de 200 UI ou 5 µg por dia e em adultos 400 UI a 600 UI por dia. São considerados normais níveis séricos de 25OH vitamina D ≥ 30 ng/ml, insuficiência entre 20 a 30 ng/ml e deficiência < 20 ng/ml, utilizando-se como referência a elevação do paratormônio.²⁰

A vitamina D atua no organismo como um hormônio. A 1,25(OH)₂ vitamina D controla a secreção de renina e de insulina^{21,22} e a deficiência está também associada com a síndrome metabólica,²⁰ incluindo *diabetes mellitus* insulino dependente e outras doenças autoimunes como esclerose múltipla, doença inflamatória intestinal, lúpus eritematoso sistêmico e artrite reumatoide, além do aumento de doenças infecciosas, neoplasia de cólon e próstata, mostrando que exerce efeitos biológicos muito além da regulação do metabolismo ósseo, o que ressalta a importância do tratamento nos casos de hipovitaminoses.²³

O tratamento da hipovitaminose D nos casos de insuficiência é seguro mesmo com doses elevadas,²⁴ desde que não atinja níveis séricos de 25(OH) vitamina D tóxicos, superiores a 150 ng/ml, ocasionando a hipercalcemia e hiperfosfate-mia, o que potencialmente pode levar à nefrolitíase renal.²⁵

Dietas pobres em cálcio estão associadas a risco de fraturas ósseas devido à osteoporose e calcinose renal.¹⁷ Há forte evidência de que os melhores resultados de prevenção de litíase renal são dietas com ingestão de cálcio de 1.200 mg/dia, acompanhado de restrição de proteína animal, sal e oxalato.²⁶⁻²⁹ Consumo de cálcio redor de 1.500 mg/dia em homens e mulheres pode reduzir o risco de nefrolitíase, mas estudos recentes do WHI revelam que doses orais diárias acima de 2.150 mg de cálcio com vitamina D, aumentam 17% o risco de desenvolver cálculos renais.³⁰

O tratamento da hipovitaminose D e suplementação de cálcio em pacientes formadores de cálculos renais é uma questão a ser considerada, uma vez que a hipercalcemia e a hipercalcúria são fatores predisponentes para a formação de nefrolitíase, justificando esse estudo experimental de litíase com sobredose de vitamina D com suplementação de cálcio.

MATERIAL E MÉTODOS

Trinta e seis ratos *Wistar* adultos de 8 semanas com peso médio de 250 g foram colocados em gaiolas individuais. Urina recém-eliminada foi coletada para dosagem de pH e de 24 horas para dosagem de creatinina, sódio, potássio, densidade urinária, cálcio e magnésio. Amostras de sangue de todos os animais foram colhidas no início e no final do experimento para a dosagem de creatinina, cálcio, sódio, potássio e magnésio. Nesse modelo de litíase experimental, utilizamos uma pastilha pré-formada de oxalato de cálcio, que foi introduzida cirurgicamente na bexiga e serve como superfície de apoio para a precipitação de elementos orgânicos e inorgânicos, inclusive podendo formar cálculos satélites.

Os animais foram divididos em seis grupos com seis animais cada: Grupo 1. Sham, sem manipulação ou droga; grupo 2: controle somente com pastilha na bexiga (P); grupo 3: controle recebendo somente 1 gota via oral com 200 UI de vitamina D₃ por dia

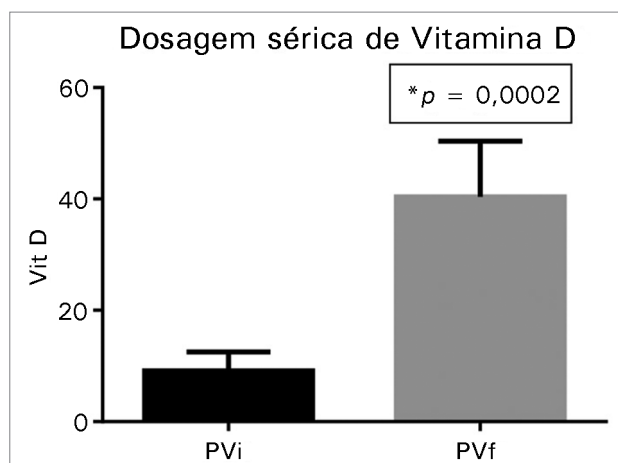
(V); grupo 4: P e V; grupo 5: P e suplementação de cálcio (Ca) 4 mg de carbonato de cálcio diluído em 0,5 ml de água administrado por gavagem e grupo 6: P + Ca + V. Os animais foram sacrificados no 30º dia, sob anestesia e perfusão renal. Os rins foram submetidos a exame anatomopatológico, com coloração de PAS. As pastilhas e os cálculos formados foram fotografados.

Os dados foram bioquímicos foram estatisticamente analisados pelo teste *t* de *Student* pareado, analisando-se os resultados no início e final do experimento para cada grupo. A formação dos cálculos na bexiga foi analisada pela curva de eventos. Foi considerado formador de cálculo negativo, quando a pastilha não apresentou deposição de cristais e positivo quando houve crescimento e/ou formação de cálculo satélite. Os dados foram descritos utilizando-se medida de desvio padrão e foi considerado significativo $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

A dosagem média de 25(OH) D sérica dos ratos do grupo PV inicialmente (PVi) foi de $9,10 \pm 3,41$ ng/ml e, após 30 dias de tratamento com V, observamos substancial elevação na PV final (PVf), com média de $40,36 \pm 10,03$ ng/ml ($*p = 0,0002$), conforme apresentado no Gráfico 1.

Gráfico 1. Dosagem de Vitamina D₃ em ng/ml Método: Vitamina D total Roche; Método: Eletroquimioluminescência Aparelho: Elecsys 2010 Intervalo de medição: 3,00-70 ng/ml.



Observou-se diminuição progressiva na formação de cálculos nos grupos que receberam V em 45% (PV, $p = 0,138$), cálcio em 55% (PCa, $p = 0,05$) e cálcio com V em 17%, que também foi significativa (PCaV, $p = 0,005$). Gráfico 2 e Figura 1.

Gráfico 2. Porcentagem da formação de cálculos: CP: Controle com pastilha; PV: Pastilha + Vitamina D₃; PCa: Pastilha + suplementação de cálcio; PCaV: Pastilha + suplementação de cálcio + Vitamina D₃.

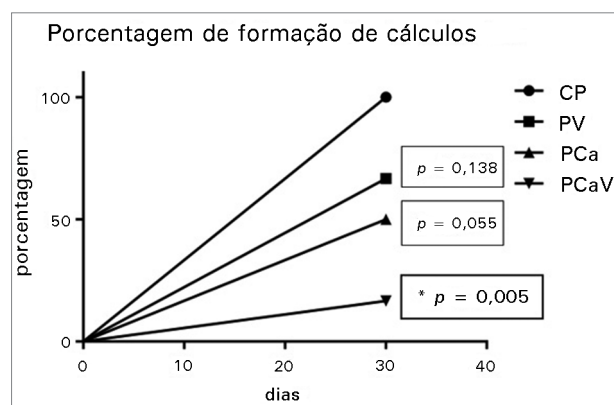
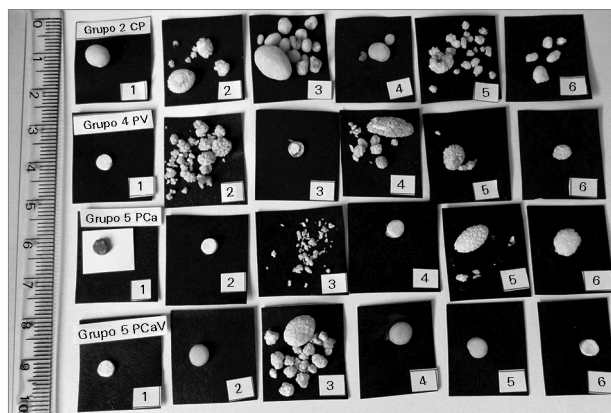


Figura 1. Fotografia dos cálculos. Grupo 2; CP: Controle com pastilha; Grupo 4; PV: Pastilha + Vitamina D₃; Grupo 5 PCa: Pastilha + suplementação de cálcio; Grupo 6: PCaV: Pastilha + suplementação de cálcio + Vitamina D₃.



A calcemia em todos os grupos não apresentou diferença significativa, comparando-se os resultados no início e no final do experimento aplicando-se o teste *t* de *Student* pareado. Não houve alteração significativa na calciúria nos grupos 1, 2, 3, 4 e 5. Houve uma significativa diminuição da calciúria nos grupo 6 $p = 0,03$. Tabela 1.

Não observamos diferenças significantes entre os valores de magnesemia e de magnesúria no início e final do experimento, analisando-se os resultados de todos os grupos no início e final do experimento individualmente pelo teste *t* de *Student* pareado (Tabela 2).

Não houve alteração no *clearance* de creatinina significativa analisando-se individualmente todos os grupos aplicando-se o teste *t* de *Student* (Tabela 3).

Não houve alterações no pH de urina recém-eliminada, densidade urinária, natremia, natriúria, potassiúria analisando-se os resultados no

TABELA 1 CALCEMIA E CALCIÚRIA DE TODOS OS ANIMAIS

	Calcemia início	Calcemia fim	Teste <i>t Student</i>	Calciúria mg/dia início	Calciúria mg/dia fim	Teste <i>t Student</i>
1. Sham	9,82 ± 0,45	9,65 ± 0,57	<i>p</i> = 0,64	0,33 ± 0,04	0,38 ± 0,07	<i>p</i> = 0,17
2. CP	9,15 ± 0,37	9,57 ± 0,42	<i>p</i> = 0,83	0,42 ± 0,11	0,36 ± 0,07	<i>p</i> = 0,10
3. CV	9,50 ± 0,24	9,93 ± 1,23	<i>p</i> = 0,42	0,30 ± 0,18	0,34 ± 0,14	<i>p</i> = 0,68
4. PV	9,93 ± 0,61	9,57 ± 0,34	<i>p</i> = 0,23	0,33 ± 0,28	0,47 ± 0,28	<i>p</i> = 0,07
5. PCa	9,90 ± 0,39	10,13 ± 0,33	<i>p</i> = 0,20	0,45 ± 0,13	0,37 ± 0,15	<i>p</i> = 0,14
6. PCaV	10,15 ± 0,30	10,00 ± 0,43	<i>p</i> = 0,45	0,40 ± 0,13	0,21 ± 0,21*	* <i>p</i> = 0,03

Calcemia e calciúria, média com SD. Grupos: 1. Sham; 2. CP: Controle com pastilha; 3. CV: Controle Vitamina D₃; 4. PV: Pastilha + Vitamina D₃; 5. PCa: Pastilha + suplementação de cálcio; 6. PCaV: Pastilha + suplementação de cálcio + V. Resultados analisados individualmente nos grupos no início (i) e final (f) do experimento aplicando-se o teste *t de Student*.

TABELA 2 MAGNESEMIA E MAGNESÚRIA DE TODOS OS ANIMAIS

	Mg plasma início	Mg plasma final	Teste <i>t Student</i>	Mg urina mg/dia início	Mg urina mg/dia fim	Teste <i>t Student</i>
1. Sham	2,13 ± 0,19	2,72 ± 0,17	<i>p</i> = 0,10	1,82 ± 0,82	3,44 ± 0,81	<i>p</i> = 0,11
2. CP	2,53 ± 0,16	2,38 ± 0,16	<i>p</i> = 0,19	1,77 ± 1,27	2,31 ± 1,78	<i>p</i> = 0,55
3. CV	2,48 ± 0,29	2,67 ± 0,80	<i>p</i> = 0,63	1,70 ± 1,03	1,99 ± 1,40	<i>p</i> = 0,75
4. PV	2,55 ± 0,40	2,37 ± 0,12	<i>p</i> = 0,28	1,28 ± 0,65	2,63 ± 1,43	<i>p</i> = 0,11
5. PCa	2,31 ± 0,10	2,57 ± 0,31	<i>p</i> = 0,10	2,81 ± 1,38	2,87 ± 1,73	<i>p</i> = 0,82
6. PCaV	2,27 ± 0,27	2,47 ± 0,27	<i>p</i> = 0,19	1,64 ± 1,63	1,70 ± 1,51	<i>p</i> = 0,83

Magnesemia e magnesúria. Grupos: 1. Sham; 2. CP: Controle com pastilha; 3. CV: Controle Vitamina D₃; 4. PV: Pastilha + Vitamina D₃; 5. PCa: Pastilha + suplementação de cálcio; 6. PCaV: Pastilha + suplementação de cálcio + V. Resultados analisados individualmente nos grupos no início (i) e final (f) do experimento aplicando-se o teste *t de Student*.

TABELA 3 CLEARANCE DE CREATININA DE TODOS OS ANIMAIS

Sham i	Sham f	CV i	CV f	CP i	CP f	PV i	PV f	PCa i	PCa f	PCaVit i	PCaVit f
1,29	1,68	0,96	1,32	0,97	1,43	1,19	1,92	1,43	1,11	1,73	1,63
1,35	1,29	0,77	1,22	1,46	1,19	1,16	1,36	1,00	0,82	1,20	1,26
1,29	1,22	0,85	1,12	0,91	0,92	1,64	1,61	0,98	1,20	1,08	0,91
1,42	1,28	1,60	1,30	0,91	1,76	1,86	1,45	1,04	1,87	1,03	0,82
1,62	1,42	1,50	1,58	1,72	1,53	1,25	1,10	1,31	1,05	1,45	1,42
1,41	1,72	1,21	1,06	0,89	1,26	1,10	1,23	1,68	0,83	1,86	1,81
<i>p</i> = 0,72		<i>p</i> = 0,37		<i>p</i> = 0,29		<i>p</i> = 0,64		<i>p</i> = 0,70		<i>p</i> = 0,09	

Clearance de creatinina em ml/min. Grupos: 1. Sham; 2. CP: Controle com pastilha; 3. CV: Controle Vitamina D₃; 4. PV: Pastilha + Vitamina D₃; 5. PCa: Pastilha + suplementação de cálcio; 6. PCaV: Pastilha + suplementação de cálcio + V. Resultados analisados individualmente nos grupos no início (i) e final (f) do experimento aplicando-se o teste *t de Student*.

início e final do experimento pelo teste *t de Student* pareado. Não houve alterações histopatológicas analisando-se os rins de todos os animais de todos os grupos, não sendo encontrados sinais de nefrocalcinose ou de nefrolitíase (dados não apresentados).

DISCUSSÃO

Conforme observado nos resultados, ocorreu menor percentual de formação de cálculos nos grupos que receberam somente cálcio e cálcio com vitamina D₃. O nível médio de 25(OH) D sérico basal dos ratos

foi de 9,10 ± 3,41 ng/ml, o que está de acordo com os resultados encontrados na literatura.³¹⁻³³ Após 30 dias de tratamento, observamos significante elevação dos níveis de 25(OH) D, chegando a 40,36 ± 10,03 ng/ml. A dose de 200 UI, ou seja, 5 µg de vitamina D₃ administrada na forma de 1 gota via oral, elevou os níveis circulantes de 25(OH) D cerca de 4 vezes. Esperávamos níveis mais elevados no sangue, uma vez que a dose de 200 UI para um rato de 250 g de peso corresponderia a 280 vezes a dose preconizada para um adulto de 70 Kg, isto equivale a administrar

50.000 UI por dia, o que deveria elevar os níveis séricos para aproximadamente 150 ng/ml, suficientes para causar intoxicação em humanos.²⁵

Intoxicação por vitamina D₃ cursa classicamente com hipercalcemia, hipercalcúria insuficiência renal com alteração dos níveis de creatinina sanguínea e urinária com diminuição do *clearance* de creatinina,²⁰ o que talvez possa aumentar o risco do desenvolvimento de nefrolitíase.

No nosso estudo, não houve alterações significantes na urina tipo 1, como diminuição do volume urinário ou hematúria, inclusive na medida do pH urinário em urina recém eliminada, que foi realizada com o objetivo de analisar o comportamento tubular numa eventual hipercalcúria, que poderia cursar com redução do pH urinário pelo aumento da excreção renal de hidrogênio e aumento da reabsorção de cálcio, mecanismos que o rim dispõe para proteger-se da formação de cálculos.²⁰ Da mesma forma, não houve alteração do *clearance* de creatinina e da calcemia, comparando-se os resultados no início e final do experimento. Observou-se significativa diminuição da calciúria no grupo 6, isto é, suplementação de cálcio com vitamina D₃. Esses resultados são compatíveis com uma sobredose de vitamina D e não com intoxicação, o que permitiu avaliar o efeito da dose elevada da vitamina D₃ no modelo de litíase por corpo estranho em ratos.

É possível que tenha ocorrido algum mecanismo protetor na absorção ou metabolização da vitamina D₃ nos ratos, evitando, assim, a intoxicação. Não observamos obstipação intestinal ou diarreia, anorexia, apatia, ranger de dentes, alteração da coordenação, dificuldade respiratória, exsudação mucosa nasal ou óbitos, como descritos em coelhos que receberam duas doses de 52 mg/kg de vitamina D₃ subcutânea, com intervalo de 4 dias, que, inclusive, apresentaram calcificação arterial e nefrocalcinose.³⁴ É interessante observar que suplementação adequada de vitamina D₃ diminui o risco de eventos cardiovasculares, mas nas intoxicações por vitamina D pode ocorrer o contrário,³⁴ o que ressalta a importância do tratamento da insuficiência de vitamina D com doses seguras e monitorização do tratamento.

No nosso experimento, a administração de cálcio diminuiu significativamente a formação de cálculos e a calciúria. Há forte evidência que a suplementação de cálcio na dieta diminui a incidência de litíase.²⁶⁻²⁸ Sorensen *et al.*²⁹ realizaram um estudo de *coorte*

com 10.000 mulheres, acompanhadas por 20 anos, que receberam cálcio radioativo. Observou-se diminuição da formação de cálculos de pelo menos em 45% nas pacientes que receberam suplementação de cálcio na dieta, ao redor de 1.500 mg/dia, comparado com pacientes com restrição de cálcio na dieta. Restrição do cálcio na dieta diminui a disponibilidade desse cátion formar sais de oxalato de cálcio na luz intestinal, resultando em maior absorção de oxalato e ocasionando aumento da oxalúria,³⁵ mas é importante salientar que consumo de cálcio maior que 2.150 mg aumenta 17% o risco de desenvolver cálculos renais.³⁰

No nosso experimento a administração de vitamina D₃ no grupo 4 reduziu a formação de cálculos em 50%, porém sem significância ($p = 0,138$). Quando administramos somente suplementação de cálcio (grupo 5) houve diminuição significativa de 50% com $p = 0,05$ da formação de cálculos e diminuiu mais ainda para 17% no grupo 6 com a adição da vitamina D₃, com $p = 0,005$.

Há poucos dados na literatura sobre tratamento de hipovitaminose D e nefrolitíase. Publicação recente em humanos pelo NHANES III³⁶ mostra que não foi encontrada correlação significativa da prevalência de nefrolitíase e os níveis séricos de 25(OH) D entre formadores e não formadores de cálculos ($p = 0,57$), inclusive com administração de vitamina D₃, levando a níveis séricos entre 40 a 50 ng/ml. Os níveis séricos de 25(OH) D não estão associados ao risco aumentado (OR) de calcinose em pacientes formadores de litíase [OR = 0,99; 95% intervalo de confiança (CI) 0,99-1,01], sendo que foi realizado o ajuste para idade, sexo, raça, níveis de cálcio sérico, histórico de hipertensão ou diabetes, índice de massa corpórea e o uso de diuréticos.³⁶ Koul *et al.*²⁵ relataram 10 casos de intoxicação em humanos na Índia. Os pacientes receberam doses elevadas por 2 a 4 meses de vitamina D₃ e desenvolveram hipercalcemia, hipercalcúria, e diminuição do *clearance* de creatinina, porém nenhum apresentou nefrolitíase ao ultrassom.

Embora o consumo de 1.200 a 1.500 mg de cálcio por dia possa diminuir a incidência de litíase, o tratamento da hipovitaminose D com doses acima das doses fisiológicas requer acompanhamento e a monitorização da dosagem de vitamina D (25OH), particularmente nos pacientes formadores de cálculos. Mais estudos nesse aspecto são necessários e ainda na curiosa associação entre síndrome metabólica, nefrolitíase e hipovitaminose D.

CONCLUSÃO

Neste protocolo, a administração de elevadas doses de vitamina D₃ associada à suplementação de cálcio diminuiu significativamente a formação de cálculos renais e cursou com diminuição significativa da calciúria, sugerindo uma proteção na fisiopatologia litogênica em ratos. O tratamento da hipovitaminose D com vitamina D₃ e suplementação de cálcio em doses adequadas talvez possa beneficiar pacientes formadores de cálculos.

AGRADECIMENTOS

Laboratório Fleury pela dosagem da Vitamina D especialmente ao Prof. Dr. José Gilberto Vieira.

REFERÊNCIAS

- Heilberg IP, Goldfarb DS. Optimum nutrition for kidney stone disease. *Adv Chronic Kidney Dis* 2013;20:165-74.
- Pak CY, East DA, Sanzenbacher LJ, Delea CS, Bartter FC. Gastrointestinal calcium absorption in nephrolithiasis. *J Clin Endocrinol Metab* 1972;35:261-70. DOI: <http://dx.doi.org/10.1210/jcem-35-2-261>
- Worcester EM, Coe FL. New insights into the pathogenesis of idiopathic hypercalciuria. *Semin Nephrol* 2008;28:120-32. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.semnephrol.2008.01.005>
- Moe OW. Kidney stones: pathophysiology and medical management. *Lancet* 2006;367:333-44. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)68071-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68071-9)
- Curhan GC. Epidemiology of stone disease. *Urol Clin North Am* 2007;34:287-93. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ucl.2007.04.003>
- Hesse A, Brändle E, Wilbert D, Köhrmann KU, Alken P. Study on the prevalence and incidence of urolithiasis in Germany comparing the years 1979 vs. 2000. *Eur Urol* 2003;44:709-13. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0302-2838\(03\)00415-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0302-2838(03)00415-9)
- Scales CD Jr, Smith AC, Hanley JM, Saigal CS; Urologic Diseases in America Project. Prevalence of kidney stones in the United States. *Eur Urol* 2012;62:160-5. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2012.03.052>
- Powell CR, Stoller ML, Schwartz BF, Kane C, Gentle DL, Bruce JE, et al. Impact of body weight on urinary electrolytes in urinary stone formers. *Urology* 2000;55:825-30. PMID: 10840085 DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0090-4295\(99\)00617-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0090-4295(99)00617-2)
- Cappuccio FP, Siani A, Barba G, Mellone MC, Russo L, Fari-naro E, et al. A prospective study of hypertension and the incidence of kidney stones in men. *J Hypertens* 1999;17:1017-22. DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/00004872-199917070-00019>
- Madore F, Stampfer MJ, Willett WC, Speizer FE, Curhan GC. Nephrolithiasis and risk of hypertension in women. *Am J Kidney Dis* 1998;32:802-7. PMID: 9820450 DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0272-6386\(98\)70136-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0272-6386(98)70136-2)
- Thamer C, Machann J, Stefan N, Haap M, Schäfer S, Brenner S, et al. High visceral fat mass and high liver fat are associated with resistance to lifestyle intervention. *Obesity (Silver Spring)* 2007;15:531-8. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/oby.2007.568>
- Blüher S, Markert J, Herget S, Yates T, Davis M, Müller G, et al. Who should we target for diabetes prevention and diabetes risk reduction? *Curr Diab Rep* 2012;12:147-56.
- Reiner AP, Kahn A, Eisner BH, Pletcher MJ, Sadetsky N, Williams OD, et al. Kidney stones and subclinical atherosclerosis in young adults: the CARDIA study. *J Urol* 2011;185:920-5. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.juro.2010.10.086>
- Rule AD, Roger VL, Melton LJ 3rd, Bergstralh EJ, Li X, Peysen PA, et al. Kidney stones associate with increased risk for myocardial infarction. *J Am Soc Nephrol* 2010;21:1641-4. DOI: <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2010030253>
- Eisner BH, Cooperberg MR, Kahn AJ, et al. Nephrolithiasis and the risk of heart disease in older women. *J Urol* 2009;181:517-8. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0022-5347\(09\)61461-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-5347(09)61461-0)
- Bagga HS, Chi T, Miller J, Stoller ML. New insights into the pathogenesis of renal calculi. *Urol Clin North Am* 2013;40:1-12. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ucl.2012.09.006>
- Garriguet D. Bone health: osteoporosis, calcium and vitamin D. *Health Rep* 2011;22:7-14.
- Unger MD, Cuppari L, Titan SM, Magalhães MC, Sasaki AL, dos Reis LM, et al. Vitamin D status in a sunny country: where has the sun gone? *Clin Nutr* 2010;29:784-8.
- Lips P, Duong T, Oleksik A, Black D, Cummings S, Cox D, et al. A global study of vitamin D status and parathyroid function in postmenopausal women with osteoporosis: baseline data from the multiple outcomes of raloxifene evaluation clinical trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1212-21. PMID: 11238511 DOI: <http://dx.doi.org/10.1210/jcem.86.3.7327>
- Bringhurst FR, Demay MB, Kronenberg HM. Hormones and Disorders of Mineral Metabolism. In: Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR, eds. *Williams Textbook of Endocrinology*. 11th ed. Philadelphia: Elsevier; 2008.
- Li YC, Qiao G, Uskokovic M, Xiang W, Zheng W, Kong J. Vitamin D: a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system and blood pressure. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2004;89-90:387-92. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsbmb.2004.03.004>
- Simpson RU, Hershey SH, Nibelink KA. Characterization of heart size and blood pressure in the vitamin D receptor knockout mouse. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007;103:521-4. PMID: 17275289 DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsbmb.2006.12.098>
- Cantorna MT. Vitamin D and autoimmunity: is vitamin D status an environmental factor affecting autoimmune disease prevalence? *Proc Soc Exp Biol Med* 2000;223:230-3. PMID: 10719834
- Hathcock JN, Shao A, Vieth R, Heaney R. Risk assessment for vitamin D. *Am J Clin Nutr* 2007;85:6-18.
- Koul PA, Ahmad SH, Ahmad F, Jan RA, Shah SU, Khan UH. V Vitamin d toxicity in adults: a case series from an area with endemic hypovitaminosis d. *Oman Med J* 2011;26:201-4. DOI: <http://dx.doi.org/10.5001/omj.2011.49>
- Heaney RP. Calcium supplementation and incident kidney stone risk: a systematic review. *J Am Coll Nutr* 2008;27:519-27. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/07315724.2008.10719734>
- Goldfarb DS. Prospects for dietary therapy of recurrent nephrolithiasis. *Adv Chronic Kidney Dis* 2009;16:21-9. DOI: <http://dx.doi.org/10.1053/j.ackd.2008.10.010>
- Park S, Pearle MS. Pathophysiology and management of calcium stones. *Urol Clin North Am* 2007;34:323-34. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ucl.2007.04.009>
- Sorensen MD, Eisner BH, Stone KL, Kahn AJ, Lui LY, Sadetsky N, et al. Impact of calcium intake and intestinal calcium absorption on kidney stones in older women: the study of osteoporotic fractures. *J Urol* 2012;187:1287-92. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.juro.2011.11.109>
- Jackson RD, LaCroix AZ, Gass M, Wallace RB, Robbins J, Lewis CE, et al.; Women's Health Initiative Investigators. Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of fractures. *N Engl J Med* 2006;354:669-83. PMID: 16481635

31. Thierry-Palmer M, Tewolde TK, Emmett NL, Bayorh MA. High dietary salt does not significantly affect plasma 25-hydroxyvitamin D concentrations of Sprague Dawley rats. *BMC Res Notes* 2010;3:332. PMID: 21143930 DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/1756-0500-3-332>
32. Hokugo A, Christensen R, Chung EM, Sung EC, Felsenfeld AL, Sayre JW, et al. Increased prevalence of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw with vitamin D deficiency in rats. *J Bone Miner Res* 2010;25:1337-49. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/jbmr.23>
33. Thierry-Palmer M, Cephas S. Plasma 25-hydroxycholecalciferol and 1,25-dihydroxycholecalciferol concentrations are decreased in hind limb unloaded Dahl salt-sensitive female rats. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010;118:188-93. PMID: 20043996 DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsbmb.2009.12.012>
34. Peixoto PV, Klem MAP, Brito MF, Cerqueira VD, França TN. Aspectos toxicológico, clínico-patológico e ultraestrutural das intoxicações iatrogênica e experimental por vitamina D em coelhos. *Pesq Vet Bras* 2010;30:277-88. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2010000300015>
35. Sakhaee K, Maalouf NM, Kumar R, Pasch A, Moe OW. Nephrolithiasis-associated bone disease: pathogenesis and treatment options. *Kidney Int* 2011;79:393-403. PMID: 21124301 DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2010.473>
36. Tang J, McFann KK, Chonchol MB. Association between serum 25-hydroxyvitamin D and nephrolithiasis: the National Health and Nutrition Examination Survey III, 1988-94. *Nephrol Dial Transplant* 2012;27:4385-9. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfs297>