



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA**  
Fundada em 18 de fevereiro de 1808



## **Monografia**

# **Hipercalcúria idiopática: mecanismos e fatores de risco**

**Rômulo Henrique Novais Leite Caires**

Salvador (Bahia)  
Novembro, 2015

**FICHA CATALOGRÁFICA**

(elaborada pela Bibl. **SONIA ABREU**, da Bibliotheca Gonçalo Moniz : Memória da Saúde Brasileira/SIBI-UFBA/FMB-UFBA)

Caires, Rômulo Henrique Novais Leite  
C136 Hipercalcúria idiopática: mecanismos e fatores de risco / Rômulo Henrique Novais Leite Caires. Salvador: RHNL Caires, 2015.

vii, 27p

Professor orientador: Maria Ermecília Almeida Melo.

Monografia como exigência parcial e obrigatória para Conclusão de Curso de Medicina da Faculdade de Medicina da Bahia (FMB), da Universidade Federal da Bahia (UFBA).

1. Hipercalcúria idiopática. 2. Hipercalcúria. 3. Nefrolitíase. I. Melo, Maria Ermecília Almeida. II. Universidade Federal da Bahia. Faculdade de Medicina da Bahia. III. Título.

CDU – 616.61-003.7



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA**  
Fundada em 18 de fevereiro de 1808



## **Monografia**

# **Hipercalcúria idiopática: mecanismos e fatores de risco**

**Rômulo Henrique Novais Leite Caires**

Professor orientador: **Maria Ermecília Almeida Melo**

Monografia de Conclusão do Componente Curricular MED-B60/2015.1, como pré-requisito obrigatório e parcial para conclusão do curso médico da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia, apresentada ao Colegiado do Curso de Graduação em Medicina.

Salvador (Bahia)  
Novembro, 2015

**Monografia: *Hipercalciúria idiopática: mecanismos e fatores de risco*, de **Rômulo Henrique Novais Leite Caires**.**

Professor orientador: **Maria Ermecília Almeida Melo**

**COMISSÃO REVISORA:**

- **Maria Ermecília Almeida Melo** (Presidente, Professora orientadora), Professora do Departamento de Medicina Interna e Apoio Diagnóstico da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia.
- **Sumaia Boaventura André**, Professora do Departamento de Medicina Preventiva e Social da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia.
- **Edna Lúcia Santos de Souza**, Professora do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia.
- **Eleonardo Pereira Rodrigues**, Doutorando do Curso de Doutorado do Programa de Pós-graduação em Medicina e Saúde (PPgMS) da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia.

**TERMO DE REGISTRO ACADÊMICO:**

Monografia avaliada pela Comissão Revisora, e julgada apta à apresentação pública no IX Seminário Estudantil de Pesquisa da Faculdade de Medicina da Bahia/UFBA, com posterior homologação do conceito final pela coordenação do Núcleo de Formação Científica e de MED-B60 (Monografia IV). Salvador (Bahia), em \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2015.

Aos Meus Pais, **Mari**  
**Rosângela Caires e**  
**Sebastião Azevedo Caires.**

## **EQUIPE**

- Rômulo Henrique Novais Leite Caires, Faculdade de Medicina da Bahia/UFBA.  
Correio-e: romulo\_caires@hotmail.com
- Maria Ermecília Almeida Melo, Faculdade de Medicina da Bahia/UFBA.  
Correio-e: erme.ufba@gmail.com

## **INSTITUIÇÕES PARTICIPANTES**

### **UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**

- Faculdade de Medicina da Bahia (FMB)

## **FONTES DE FINANCIAMENTO**

1. Recursos próprios.
-----------------------

## AGRADECIMENTOS

- ◆ A minha Professora orientadora, **Maria Ermecília Almeida Melo**, exemplo de profissional e ser humano, pelo auxílio e paciência durante a confecção desse trabalho.

## SUMÁRIO

<b>ÍNDICE DE FLUXOGRAMAS E QUADROS</b>	<b>2</b>
<b>ÍNDICE DE SIGLAS E ABREVIATURAS</b>	<b>3</b>
<b>I. RESUMO</b>	<b>4</b>
<b>II. OBJETIVOS</b>	<b>5</b>
<b>III. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>	<b>6</b>
<b>IV. METODOLOGIA</b>	<b>9</b>
<b>V. RESULTADOS</b>	<b>11</b>
V.1. Relação da vitamina D e seus substratos, receptor de vitamina D (VDR) e alterações descritas na hipercalcúria idiopática	14
V.2. Mediadores de excreção pós-prandial de cálcio	17
V.3. Efeitos dietéticos na hipercalcúria idiopática	18
<b>VI. DISCUSSÃO</b>	<b>19</b>
<b>VII. CONCLUSÃO</b>	<b>23</b>
<b>VIII. SUMMARY</b>	<b>24</b>
<b>IX. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>25</b>



## ÍNDICE DE FLUXOGRAMAS E QUADROS

### **FLUXOGRAMAS**

FLUXOGRAMA I. Seleção de artigos nas bases de dados propostas	<b>12</b>
---	-----------

### **QUADROS**

QUADRO 1. Relação do número de artigos buscados por base de dados	<b>11</b>
QUADRO 2. Fichamento dos artigos selecionados para a revisão quanto à autor/ano, tipo de estudo, amostra e mecanismo relacionado à hipercalcúria idiopática	<b>12</b>
QUADRO 3. Discriminação entre o mecanismo relacionado à hipercalcúria idiopática e o número de artigos que retratam esse mecanismo	<b>14</b>

## ÍNDICE DE SIGLAS E ABREVIATURAS

FECa – Fração de excreção de cálcio urinário

GHS – do inglês genetic hypercalciuric stone-forming

HI – Hipercalciúria idiopática

NCX1 – Bomba de sódio da membrana plasmática das células epiteliais renais

PMCA1b – Cálcio-ATPase da membrana plasmática das células epiteliais renais

SCa – Cálcio sérico

TRPV – Receptor transitório de potencial vaniloide

UCa – Cálcio urinário

VDR – Receptor de vitamina D

## I. **Resumo**

### **HIPERCALCIÚRIA IDIOPÁTICA: MECANISMOS E FATORES DE RISCO.**

**Fundamentação Teórica:** Litíase renal é uma condição causada por uma vasta variedade de fatores, incluindo desordens metabólicas e defeitos anatômicos com ou sem infecções urinárias crônicas. A maioria das causas de litíase renal são idiopáticas, mas fatores ambientais e de estilo de vida desempenham um papel considerável na gênese da doença. Hipercaleiúria idiopática (HI) ocorre nos casos em que há aumento da excreção urinária de cálcio, sendo a concentração sérica de cálcio normal e excluídas outras causas de aumento dessa excreção como: excesso de vitamina D, acidose metabólica, doenças tubulares granulomatosas, uso de esteroides e hipertireoidismo.

**Objetivo:** agregar evidências dos mecanismos que estão relacionados com a gênese da hipercaleiúria idiopática e os fatores de risco para o desenvolvimento da doença, considerando a importância do distúrbio na patogênese da nefrolitíase. **Metodologia:** O trabalho em questão trata-se de uma revisão sistemática de literatura. Os artigos que fizeram parte da revisão foram pesquisados nos bancos de dados das bibliotecas do PubMed, LILACS e ScieLO. **Resultados:** O total de trabalhos encontrados que atenderam aos fatores de inclusão foram 10 artigos. Na análise desses artigos surgiram três diferentes mecanismos relacionados à HI: 1. relação da vitamina D e seus substratos, receptor de vitamina D (VDR) e alterações descritas na hipercaleiúria idiopática; 2. mediadores da excreção pós-prandial de cálcio na hipercaleiúria idiopática; 3. Efeitos dietéticos na hipercaleiúria idiopática. **Discussão e Conclusão:** Há uma heterogeneidade entre as propostas de cada trabalho. Destaca-se grande presença de estudos experimentais com modelos animais na análise dos mecanismos relacionados à HI em relação aos estudos com seres humanos, gerando dificuldades na extrapolação dos achados para a prática médica. O principal mecanismo relacionado à gênese da HI foi a expressão aumentada de receptores de vitamina D (VDR). Não houve evidência de que a insulina e outros fatores relacionados à alimentação tenham relação com a excreção pós-prandial de cálcio aumentada vista na HI. Observaram-se evidências significativas de que a alta ingestão de sódio pode ser considerada um fator de risco para o desenvolvimento da HI.

**Palavras chave:** 1. Hipercaleiúria idiopática; 2. Hipercaleiúria; 3. Nefrolitíase

## II. **Objetivos:**

Geral:

Descrever os achados mais atuais relacionados aos mecanismos associados à ocorrência de hipercalcúria idiopática.

Específicos:

Identificar os principais fatores de risco associados à hipercalcúria idiopática descritos na literatura.

### III. Fundamentação Teórica

Litíase renal é uma condição causada por uma vasta variedade de fatores, incluindo desordens metabólicas, defeitos anatômicos com ou sem infecções urinárias crônicas (1). A maioria das causas são idiopáticas, em que a predisposição genética atua como um componente importante, mas fatores ambientais e de estilo de vida desempenham um papel considerável na gênese da doença (2). O entendimento da epidemiologia e da interação dos diferentes fatores é muito importante, pois auxilia no tratamento da nefrolitíase e na redução da recorrência de novos cálculos.

A epidemiologia pode ajudar a entender o manejo da litíase de várias formas, incluindo quantificar mudanças nos padrões e encargos da doença, identificar fatores de risco associados e avaliar a interação desses fatores. A prevalência mundial de cálculos urinários na população geral é estimada entre 2 e 20% (3). Nos EUA, estima-se que o risco de formação de cálculos seja de 12% em homens e 6% em mulheres (4, 5). Na infância, a real prevalência desta doença pode estar subestimada, presumindo-se que seja em torno de 5% em crianças caucasianas americanas (5). Sem um tratamento preventivo adequado, a taxa de recorrência pode chegar a 50% depois de 10 anos e 75% depois de 20 anos (6).

Cálculos renais, em sua maioria, são compostos de oxalato de cálcio, hidroxapatita e, raramente, bruxita. Menos comuns são os cálculos não calcáreos compostos por ácido úrico, estruvita, cistina e constituintes mistos (triamterene, 2,8- dihydroxyadenine e sílica). Por conta de sua grande capacidade de agregação, o produto final da gênese do cálculo, em sua maioria, apresenta cálcio na constituição. O risco relativo de formação do cálculo está muito relacionado a concentração urinária de cálcio (7, 8).

O início da formação e crescimento dos cálculos requerem a gênese e retenção dos cristais no interior do rim. Para que os cristais sejam formados é necessária a supersaturação da urina com relação ao material do cálculo. Essa supersaturação excessiva ocorre principalmente por: deficiência de inibidores; excesso de substâncias litogênicas; alterações persistentes no pH urinário; infecção; alterações anatômicas e/ou urodinâmicas; mecanismos mistos (9, 10, 11, 12).

Distúrbios metabólicos (excesso de substâncias litogênicas, deficiência de inibidores e alterações no pH) acometem aproximadamente 80 a 95% dos litíásicos, sendo que a hipercalciúria idiopática (HI) está presente em 40 a 60% dos indivíduos (7). Outras causas importantes de nefrolitíase incluem alterações na reabsorção óssea,

ingestão de quantidades excessivas de sal e de proteína, hiperexcreção de ácido úrico, hiperossalúria, hipocitratúria e infecção do trato urinário (7).

O termo hipercalcúria idiopática (HI) foi introduzido para distinguir um grupo de pacientes formadores de cálculos que exibiam hipercalcúria sem a presença de hipercalcemia e também com ausência de: uso excessivo de vitamina D, hiperparatireoidismo primário, hipertireoidismo, acidose tubular renal, sarcoidose, outros granulomas ou malignidade. É provável que a HI seja uma anormalidade poligênica e os genes que contribuem para o fenótipo devem variar de indivíduo para indivíduo (13, 14). A hipercalcúria idiopática representa a alteração metabólica primária em 30 a 60% dos pacientes com nefrolitíase causadas por cálcio (15). Ela é definida por níveis de excreção urinária de cálcio em uma amostra de urina de 24 horas superior a 300 mg/dia (7,5 mmol) em homens ou 250 mg/dia (6,25 mmol) em mulheres ou maior do que 4 mg (0,1 mmol) por quilograma de peso corporal por dia, independentemente do sexo e idade, na ausência de hipercalcemia.(16, 17).

A homeostase do cálcio envolve o controle coordenado do manuseio do íon pelo intestino, rim e ossos, sob influência do hormônio da paratireoide (PTH) e 1,25(OH)2D3. Esses hormônios regulam a síntese e atividade dos transportadores responsáveis pela translocação de cálcio nesses sítios (14). Anormalidades da regulação do cálcio nesses locais têm sido implicadas nas causas de HI, no entanto os mecanismos subjacentes não são completamente compreendidos e as contribuições relativas desses sítios podem variar de indivíduo para indivíduo (14). Estudos mais recentes têm tentado elucidar esses possíveis alvos de alterações na HI, que cursariam com as falhas no transporte de cálcio. Alguns desses alvos estão localizados no túbulo contorcido distal, que é a região responsável pelo transporte transcelular de cálcio nos rins. Como exemplos tem-se: o TRPV 5, que é um canal que controla a entrada de cálcio nas células do túbulo distal; as proteínas da família calbindina, que medeiam o transporte do cálcio dentro dessas células; o NCX1, que é um permutador sódio/cálcio e o PMCa, que é uma cálcio-ATPase, estão envolvidos na retirada do cálcio do meio intracelular e a sua transferência para fora das células do túbulo. Um outro canal que vem sendo estudado é o TRPV 6, que é encontrado principalmente em células do intestino, mas também nas células renais da alça ascendente de Henle (14).

Apesar dos avanços no conhecimento de sua patogênese, a hipercalcúria idiopática é ainda um assunto controverso, pois há dificuldade estatística de se determinar um

limite superior de excreção de cálcio em uma população normal. Acrescenta-se ainda o pouco conhecimento sobre o papel de fatores dietéticos na gênese da doença e a importância exata de cada sítio regulatório na patogênese da HI.

Nesse contexto, o objetivo desse trabalho é agregar evidências dos mecanismos que estão relacionados com a gênese da hipercalcúria idiopática, considerando que diversos fatores envolvidos na patogênese da doença em questão ainda precisam ser melhor elucidados, como o papel da expressão dos receptores de vitamina D e sua relação com os distúrbios relacionados a HI, as alterações nas proteínas carreadoras de cálcio nos rins e as alterações na absorção intestinal e óssea. Considera-se ainda muito importante a melhor elucidação dos principais fatores de risco da doença para que os indivíduos mais susceptíveis a desenvolver a HI sejam melhor monitorados e, dessa forma, tenham menores chances de serem expostos às consequências da formação de cálculos e demais eventos provocados pela patologia.

#### **IV. Metodologia**

##### **Tipo de estudo**

Revisão sistemática de literatura

##### **Amostra**

Estudos de caso controle e experimentais publicados entre os anos de 2009 e 2014 sobre os mecanismos relacionados à patogênese da hipercalcúria idiopática e os principais fatores de risco da doença. Os artigos foram pesquisados nas bases de dados PubMed, acessível pelo endereço eletrônico <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>; LILACS, acessível pelo endereço eletrônico <http://lilacs.bvsalud.org/>; ScieLO, acessível pelo endereço eletrônico <http://www.scielo.org.ar/scielo.php>. Caso os artigos buscados estivessem indisponíveis em alguma das bases de dados a busca foi ampliada ao portal da Biblioteca Virtual de Saúde (BVS), através do portal da Biblioteca Regional de Medicina (BIREME) e também através do portal Periódicos CAPES.

##### **Critérios de inclusão:**

- 1) Estudos caso-controle e experimentais que avaliassem os mecanismos relacionados a gênese da HI e os fatores de risco relacionados à HI, incluindo ambos os sexos e todas as idades;
- 2) Publicações entre os anos de 2009 e 2014.
- 3) Publicações escritas na língua inglesa.
- 4) Possibilidade de avaliação do resumo/abstract.
- 5) Acesso livre ao artigo pelo portal Periódicos CAPES.

##### **Critérios de exclusão:**

- 1) Estudos caso-controle e experimentais em que o distúrbio primário analisado não seja a hipercalcúria idiopática, excluindo-se os estudos que cruzem com outros distúrbios.
- 2) Estudos com foco nos distúrbios ósseos provocados pela HI.
- 3) Estudos que avaliassem intervenções terapêuticas na HI.



### **Seleção dos artigos**

A estratégia utilizada foi uma busca sistematizada com a utilização de expressões chaves que se adequassem aos objetivos. Na escolha das palavras chaves observou-se que ainda não havia sido indexada nas bases de dados dos termos biomédicos MeSH e DeCS termos que se relacionassem com a doença hipercalcúria idiopática, existindo o termo que corresponde apenas à excreção aumentada de cálcio (hipercalcúria) ou termos que se referissem a outros distúrbios que não fazem parte dos objetivos da revisão. Foram então escolhidas as seguintes expressões chaves: hypercalciuric nephrolithiasis e idiopathic hypercalciuria. Os termos em questão foram agrupados em operadores booleanos específicos da base de dados (OR e AND), chegando-se a seguinte estratégia de busca: (idiopathic hypercalciuria) OR hypercalciuric nephrolithiasis. As buscas foram realizadas entre junho e julho de 2014.

## V. Resultados

Através da utilização das expressões chaves anteriormente propostas foram localizados 1031 artigos nas 3 bases de dados, como demonstra o quadro 1.

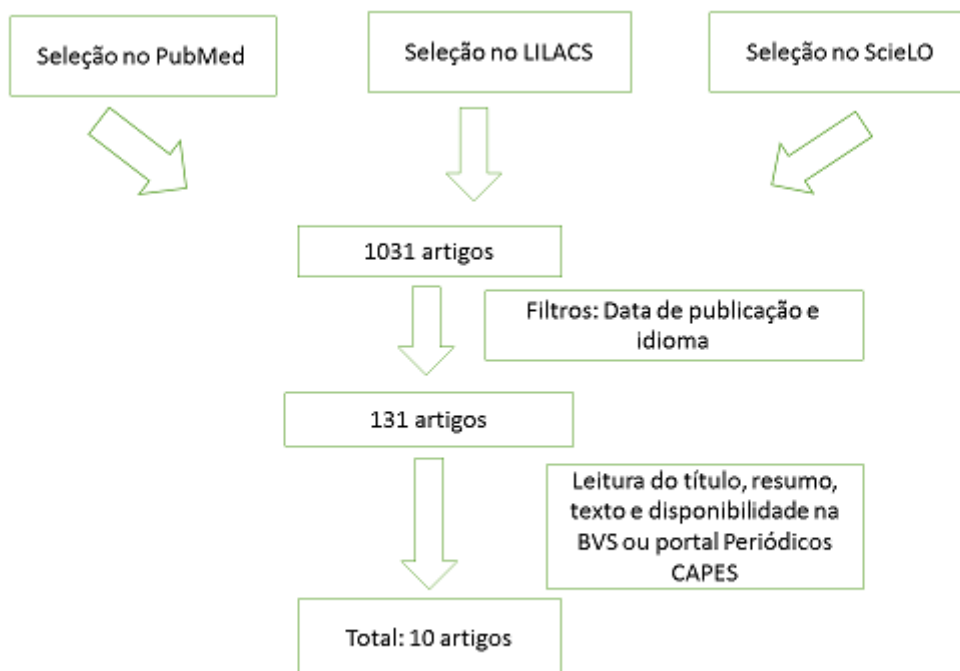
**Quadro 1.** Relação do número de artigos buscados por base de dados.

Base de dados	Estratégia de busca	Número de artigos encontrados
PubMed	(idiopathic hypercalciuria) OR hypercalciuric nephrolithiasis	985
SciELO	(idiopathic hypercalciuria) OR hypercalciuric nephrolithiasis	18
LILACS	(idiopathic hypercalciuria) OR hypercalciuric nephrolithiasis	28
Total		1031

A partir dos 1031 artigos encontrados, procedeu-se com a aplicação dos filtros de data de publicação (entre 01 de janeiro de 2009 a 30 de maio de 2014) e de idioma (inglês), totalizando 128 artigos na plataforma PubMed, 3 artigos na plataforma LILACS e 3 artigos na plataforma ScieLO. Os artigos da plataforma LILACS e ScieLO encontrados após a utilização dos filtros eram iguais. Portanto, chegou-se a 131 artigos. Posteriormente foi realizada a análise dos títulos e resumos. Nos casos em que ainda houve dúvidas quanto a aplicação dos critérios de inclusão, foi feita a leitura completa dos artigos. Após a leitura dos títulos, resumos e texto completo foram excluídos 120 artigos pelos seguintes critérios: tratarem de doenças diferentes da hipercalcúria idiopática; tratarem de outros tipos de estudo que não estudos de caso controle ou estudos experimentais; estarem focados em outros aspectos como intervenção terapêutica ou distúrbios ósseos. 11 artigos preenchiam os critérios de inclusão, entretanto 2 desses artigos não possuíam livre acesso na base de dados procurada. Foi recuperado 1 desses artigos através do portal Periódico CAPES e o outro não foi

recuperado por nenhuma das formas anteriormente propostas, sendo excluído da análise. Assim, um total de 10 artigos foram selecionados para a revisão. O processo de seleção pode ser visualizado melhor no fluxograma 1.

**Fluxograma 1.** Seleção de artigos nas bases de dados propostas.



O quadro 2 discrimina os artigos revisados quanto a autor, ano, tipo de estudo, amostra e o mecanismo estudado.

**Quadro 2.** Fichamento dos artigos selecionados para a revisão quanto à autor/ano, tipo de estudo, amostra e mecanismo relacionado à HI.

Número do artigo	Autor/Ano	Tipo de estudo	Amostra	Mecanismo relacionado à HI
1	Frick et al. (2014)	Estudo experimental	32 ratos (16 GHS e 16 ratos controle)	Relação da vitamina D e seus substratos, receptor de vitamina D (VDR) e alterações descritas na hipercalcúria idiopática

Continua.

**Quadro 2.** [continuação]

2	Frick et al. (2013)	Estudo experimental	32 ratos (16 GHS e 16 ratos controle)	Relação da vitamina D e seus substratos, receptor de vitamina D (VDR) e alterações descritas na hiper calciúria idiopática
3	Yoon et al. (2013)	Estudo caso-control	32 pacientes (10 com HI e 22 pacientes controle)	Mediadores da excreção pós-prandial de cálcio
4	Frick et al. (2013)	Estudo experimental	32 ratos (16 GHS e 16 ratos controle)	Relação da vitamina D e seus substratos, receptor de vitamina D (VDR) e alterações descritas na hiper calciúria idiopática
5	Worcester et al. (2013)	Estudo caso-control	41 pacientes (29 com HI e 17 controle)	Mediadores da excreção pós-prandial de cálcio
6	Damasio et al. (2011)	Estudo caso-control	105 pacientes (55 com HI e 50 controle)	Efeitos dietéticos na hiper calciúria idiopática
7	Xi et al. (2011)	Estudo experimental	48 ratos (24 ratos GHS e 24 ratos controle)	Relação da vitamina D e seus substratos, receptor de vitamina D (VDR) e alterações descritas na hiper calciúria idiopática
8	Xi et al. (2010)	Estudo experimental	Célula epitelial renal de um rato normal	Relação da vitamina D e seus substratos, receptor de vitamina D (VDR) e alterações descritas na hiper calciúria idiopática
9	Nouvenne et al. (2010)	Estudo caso-control	210 pacientes com HI (108 com dieta baixa em sódio e 102 com dieta controle)	Efeitos dietéticos na hiper calciúria idiopática
10	Bai et al. (2010)	Estudo experimental	Ratos GHS e ratos controle (sem menção de quantidade)	Relação da vitamina D e seus substratos, receptor de vitamina D (VDR) e alterações descritas na hiper calciúria idiopática

Os estudos caso-control foram realizados sempre com a comparação de pacientes com normocalciúria (pacientes controle) e pacientes com HI. Os estudos experimentais foram conduzidos a partir de ratos que, através da seleção de várias gerações, são considerados modelos da doença por apresentarem altas taxas de excreção de cálcio na urina (ratos GHS). As alterações nesses ratos são comparadas com modelos

de ratos que apresentam excreção urinária de cálcio normal (ratos NC). Um dos estudos experimentais avaliou uma célula epitelial renal de um rato normal e outro utilizou de análises in vivo e in vitro (análise de 3 células). Os mecanismos específicos relacionados à HI e o respectivo número de artigos pode ser visto no quadro 3.

**Quadro 3.** Discriminação entre o mecanismo relacionado à HI e o número de artigos que retratam esse mecanismo.

Mecanismo relacionado à HI	Número de artigos
Relação da vitamina D e seus substratos, receptor de vitamina D (VDR) e alterações descritas na hipercalcúria idiopática	6
Mediadores da excreção pós-prandial de cálcio	2
Efeitos dietéticos na hipercalcúria idiopática	2

Serão descritos os mecanismos relacionados à HI, em primeira ordem os ligados diretamente a patogênese da doença: relação da vitamina D e seus substratos, receptor de vitamina D (VDR) e alterações descritas na hipercalcúria idiopática; mediadores da excreção pós-prandial de cálcio; Posteriormente serão descritos os efeitos dietéticos na hipercalcúria idiopática.

### **1. Relação da vitamina D e seus substratos, receptor de vitamina D (VDR) e alterações descritas na hipercalcúria idiopática.**

Seis artigos avaliaram alterações relacionadas à vitamina D, como upregulate de VDR e alterações nos transportadores de cálcio, que acarretariam mudanças na absorção renal, óssea e intestinal e possivelmente explicariam os achados da doença. Os dois primeiros estudos possuem propostas semelhantes, mas se diferenciam nos modelos utilizados (in vivo ou in vitro). No primeiro deles Xi et al (18), silenciaram o gene do VDR renal nos ratos GHS e também no grupo controle (NC rats) utilizando uma injeção de microRNA de adenovírus. Antes da depleção de VDR foram mensurados os níveis

dos transportadores epiteliais de cálcio nos rins. Os resultados pós depleção mostraram que os ratos GHS excretaram significativamente mais UCa, enquanto nos ratos NC não houve mudanças significativas. Os níveis de expressão de TRPV5 cresceram significativamente nos ratos GHS. Uma regulação negativa similar foi observada por conta do aumento da expressão de NCX1 e calbindina-D9k. Os níveis de calbindina-D28k e PMCA1b não se alteraram. Tais resultados sugeriram que a queda do receptor VDR nos rins poderia fazer upregulate da expressão de TRPV 5 nos ratos GHS. Entretanto, contraditoriamente houve aumento da excreção de cálcio na urina.

No outro estudo, Xi et al. (19) examinaram os efeitos *in vitro* do VDR sobre a expressão das proteínas envolvidas na reabsorção transcelular de cálcio nos rins. Foi silenciado o gene de VDR através de infecção por adenovírus e observado as alterações causadas por esse efeito na expressão dessas proteínas. O silenciamento de VDR induziu um decréscimo de 50% na expressão de mRNA de TRPV5. Também reduziu a expressão de mRNA de calbindina-D28k e PMCA1b. Não foram detectados efeitos significativos na expressão de TRPV6 e NCX1. Dessa forma, de forma antagônica ao estudo anterior, verificou-se principalmente que os níveis de TRPV5 decresciam com a depleção de VDR.

Os outros quatro estudos trataram de forma mais focada na resposta biológica aumentada à vitamina D, mas também analisaram o papel das proteínas renais envolvidas no transporte de cálcio. Frick et al. publicaram estudos sequenciais, em que há uma hipótese inicial que desencadeia outras hipóteses, numa tentativa de analisar o papel da vitamina D sob diferentes ângulos. No primeiro deles, Frick et al. (20) avaliaram a hipótese de aumento da resposta biológica à 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> nos ratos GHS. Esses ratos possuíam níveis maiores de VDR do que ratos controle, mas com níveis normais de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, indicando a possibilidade que o VDR estaria subsaturado com 1,25D. Foram alimentadas ambas as linhagens de ratos de forma equânime e injetado 1,25D por 16 dias. Os resultados desse estudo mostraram que a partir da administração de 1,25D houve um aumento significativamente maior no UCa nos ratos GHS em relação ao grupo controle. Não havia diferença na expressão de RNA dos marcadores renais de transporte epitelial de cálcio entre os ratos GHS e controle antes da adição de 1,25D. Após a adição, aumentou-se a expressão de TRPV5, TRPV6 (houve um aumento bem maior em GHS do que no controle), e calibidina D28k em ambos os grupos. Através da observação do maior aumento da excreção urinária de cálcio após a injeção de 1,25D nos ratos GHS em relação ao controle e das alterações na

disponibilidade de proteínas renais, chegou-se à conclusão de que essas alterações decorriam de uma maior resposta à 1,25D no intestino (aumento da absorção) e/ou nos ossos (aumento da reabsorção), que devia exceder qualquer efeito da vitamina em mediadores da reabsorção renal de cálcio.

Posteriormente, Frick et al. (21) partindo de conclusões do estudo anterior, que a 1,25(OH)2D3 aumentou mais a excreção urinária de cálcio em ratos GHS do que em ratos controle, objetivaram determinar a fonte desse aumento. Para determina-la, os pesquisadores se perguntaram se a 1,25D aumentaria a UCa em ratos GHS alimentados com uma dieta pobre em cálcio (a dieta pobre em cálcio anulava o efeito da reabsorção intestinal). Nos ratos GHS sem a 1,25D e nos ratos GHS e controle com 1,25D, a UCa excedeu em muito a ingestão diária de cálcio, ou seja, houve balanço negativo. A expressão de RNA dos componentes do transporte renal de cálcio indica que antes da administração de 1,25D não havia diferença na expressão de TRPV 5 e 6 entre os grupos. A aplicação de 1,25D aumentou a expressão de TRPV 5 e 6 e calibidina 28k nos ratos controle. Nos ratos GHS houve apenas aumento de TRPV 6. Não houve diferença em outros transportadores. Assim, o maior aumento da UCa com 1,25D em ratos GHS alimentados com dieta pobre em cálcio sugeriu fortemente que a UCa adicional resultaria de um aumento da reabsorção óssea, provavelmente devido ao aumento do número de VDRs nas células dos ossos de ratos GHS.

Partindo dos pressupostos dos dois estudos anteriores, nos quais havia subsaturação dos receptores de vitamina D nos ratos GHS e que o provável foco do UCa adicional é ósseo, Frick et al. (22) testaram a hipótese de que a inibição da reabsorção óssea com a máxima dose do bifosfanado alendronato poderia resultar em equalização do UCa entre os ratos GHS e controle, ambos com dietas pobres em cálcio e com aplicação de 1,25D. Os resultados mostraram que, com a utilização do alendronato e aplicação da 1,25D, os ratos controle tiveram a UCa equalizada em relação ao momento anterior à aplicação da vitamina e utilização do medicamento. Já nos ratos GHS a UCa continuou elevada, ou seja, os ratos continuaram hipercalcêmicos. Dessa forma, a provável elevação de VDR nas células ósseas dos ratos GHS seria de uma intensidade tamanha, que a máxima dose de alendronato não seria capaz de eliminar a resposta aumentada à 1,25D nesses ratos.

O último dos estudos que trataram do mecanismo em questão foi o de Bai et al. (23), em que os autores investigaram os motivos do possível upregulation do VDR. Snail, um fator de transcrição expresso em processos migratórios durante o desenvolvimento embrionário e implicado no desenvolvimento de câncer metastático

através de downregulation de VDR foi então investigado. Foram utilizados ratos GHS e ratos controle. Assim, foi mensurada a expressão do gene de Snail e os níveis de proteínas em relação a VDR nesses ratos. Os resultados desse estudo mostraram um aumento significativo dos níveis de VDR no duodeno e nos rins dos ratos GHS comparados com os ratos controle. Os resultados também revelaram que não havia mutação, polimorfismos ou variações de splicings nas sequências de DNA relacionadas a VDR em GHS comparados com os ratos NC. Nos ratos GHS os níveis de mRNA de Snail eram significativamente menores comparados com os ratos NC, sendo também significativa a relação inversa entre Snail e VDR nos ratos GHS, revelando uma provável supressão do fator de transcrição. O ensaio imunomediado nas células sugeriram que Snail poderia regular a transcrição de VDR através da ligação ao sítio E-box 3 localizado dentro do promotor de VDR. As ligações do Snail com o promotor VDR são reduzidas nos ratos GHS comparados com o controle e são acompanhadas de hiperacetilação da histona H3. Esses resultados provavelmente evidenciam que a elevação de VDR em ratos GHS ocorre devido a redução da ligação da Snail ao promotor VDR e hiperacetilação de histonas H3 observadas nesses ratos.

## **2. Mediadores da excreção pós-prandial de cálcio**

Em relação à esses mediadores, foi estudada a influência que eles teriam no metabolismo do cálcio no momento pós prandial, ou seja, se haveria elementos influenciados pela alimentação que justificassem o aumento da excreção urinária de cálcio no período em questão e se esses elementos teriam importância na patogênese da HI. Houve dois estudos que analisaram o papel desses mediadores. Em um deles Worcester et al. (24) avaliou a diminuição da reabsorção renal de cálcio em pacientes com HI, marcadamente no período pós-prandial, e para determinar possíveis determinantes dessa diminuição compararam 29 indivíduos com HI e 17 indivíduos normais (N), os quais foram alimentados com quantidades proporcionais idênticas de cálcio. Nos resultados, os níveis de 3 sinalizadores candidatos, o cálcio sérico (SCa), insulina (I), e hormônio da paratireoide (PTH) não diferiu entre HI e N em jejum ou no estado alimentado, não devendo ser esses sinalizadores o motivo das diferenças entre a FECa dos pacientes após a alimentação..

No outro estudo que trata dessa questão, Yoon et al. (25) investigaram o impacto da hiperinsulinemia na excreção urinária de cálcio em pacientes com HI em comparação



com os pacientes controle. 10 pacientes com HI e 22 pacientes controle (divididos em 2 grupos: 8 de IMC normal e 14 com sobrepeso ou obesidade) participaram do estudo. Após a estabilização em uma dieta metabólica fixa, os indivíduos foram submetidos a uma braçadeira de insulinemia euglicêmica (permite uma variação da insulinemia, sem variação da glicemia). Nos resultados, não houve correlação entre a sensibilidade à insulina e cálcio urinário de 24 horas ou mudança na FECa no período hiperinsulinêmico. Dessa forma, o aumento do cálcio urinário associado à hiperinsulinemia era pequeno e não diferia estatisticamente entre os pacientes HI e os pacientes controle. O estudo chegou à conclusão que de forma improvável a insulina desempenharia papel importante na patogenia da HI.

### **3. Efeitos dietéticos na hipercalcúria idiopática**

Os únicos dois trabalhos que tratavam sobre fatores de risco de desenvolvimento da HI analisaram variáveis dietéticas, e o sódio mostrou-se como o fator mais importante. No estudo de Damasio et al (26) foram distribuídos 105 pacientes em 2 grupos (55 pacientes com HI e 50 normais) com o objetivo de comparar a ingestão diária de sódio entre os pacientes. A investigação metabólica consistiu de duas amostras não consecutivas de urina de 24h. A ingestão de sódio foi avaliada com base na excreção urinária de sódio de 24 horas. Os resultados mostraram que a ingestão de sódio foi significativamente maior em pacientes com HI em comparação com os pacientes controle e essa maior ingestão poderia ser um fator de risco para o desenvolvimento da hipercalcúria.

Nouvenne et al (27) fizeram um estudo randomizado e controlado de 3 meses, no qual foram separados uma amostra de 102 pacientes com dieta controle (a única exigência era consumir uma quantidade determinada de água com baixas quantidades de sódio e cálcio) e uma outra amostra de 108 pacientes, que era submetida a uma dieta com baixo teor de sódio (envolvia uma diminuição de alimentos ricos em sódio e o não uso de sal para temperar a comida caseira) como também uma recomendação de consumo de quantidades entre 800-1000mg/dia de cálcio. Amostras de urina de 24h eram colhidas duas vezes de cada paciente, uma no início do estudo e outra após 3 meses de realização da dieta. Os resultados do estudo mostraram que a excreção de cálcio dos pacientes que foram submetidos a dieta com baixo teor de sódio foi mais de 30% menor, tendo alguns pacientes com HI normalizado a calcúria.

## VI. Discussão

A partir de 1982 os estudos sobre a HI obtiveram grande impulso por causa de inovadores experimentos realizados por Adams et al. (28) e Maierhofer et al. (29). Os autores em questão foram capazes de reproduzir as mudanças no transporte de cálcio no intestino, rins e ossos encontradas na HI em pacientes normais através da aplicação de 1,25D. Diante dos resultados desses estudos se fortaleceu a teoria de que a HI possuía um mecanismo patológico diretamente relacionado com a vitamina D. O aumento da UCa com a 1,25D sugeria fortemente que o efeito de aumentar a absorção intestinal de cálcio e a reabsorção óssea superava qualquer estímulo da 1,25D na reabsorção renal de cálcio tubular (30).

Embora níveis inapropriadamente elevados de 1,25D pudessem contribuir para o fenótipo de alguns pacientes com HI, a maioria deles possuía níveis normais circulantes (31). Esse fato suscitou a possibilidade dos pacientes com HI possuírem, na verdade, níveis elevados de VDR ou alterações na resposta do receptor. Os estudos subsequentes começaram a buscar evidências que corroborassem a hipótese de alterações no VDR e também passaram a estudar mais detalhadamente as interações moleculares do cálcio e de seus reguladores no intestino, ossos e rins.

Na esfera dos cenários abordados nessa revisão é possível perceber que há uma heterogeneidade entre as propostas de cada trabalho. Destacam-se grande presença de estudos experimentais com modelos animais na análise dos mecanismos relacionados à HI em relação aos estudos com seres humanos. Muitos desses estudos utilizaram ratos possuidores das principais características da HI humana (ratos GHS) ou analisaram células *in vitro*. Esse fato suscita duas questões. Os estudos sobre a HI ainda se encontram muito restritos ao nível de experimentos com animais. A dificuldade de realização dos experimentos em escala humana dificulta a extrapolação dos achados para a realidade prática. Alguns dos estudos experimentais utilizaram metodologias diferentes entre si (por exemplo, o uso de análises *in vitro* e *in vivo*), o que ocasionou, em algumas situações, resultados que se contradiziam. Além do mais, houve uma imensa variedade nos resultados dos estudos que analisaram a expressão das proteínas renais de transporte de cálcio, não permitindo, portanto, boas inferências quanto ao papel dessas proteínas na patologia.

Os estudos de Xi et al. (18) e Xi et al. (19) silenciaram o gene do VDR em ratos GHS e ratos controle e analisaram as consequências desse ato. No primeiro, há uma metodologia questionável. O silenciamento do gene do VDR ocorreu apenas ao nível

renal, o que anulou de antemão a interferência dos ossos e intestino na calciúria. O segundo estudo foi conduzido apenas *in vitro*, o que impediu de analisar as repercussões do silenciamento na excreção de cálcio. Os resultados do primeiro estudo mostraram um aumento da expressão de transportadores renais nos ratos estudados após a depleção de VDR, mais pronunciadamente nos ratos GHS, principalmente o transportador TRPV 5. O aumento do TRPV 5 deveria em tese elevar o transporte de cálcio, ou seja, aumentar a reabsorção renal de cálcio e com isso diminuir a calciúria. Entretanto, foi observado justamente o contrário: aumento da calciúria nos ratos GHS. No segundo estudo, a análise *in vitro* mostrou que o silenciamento do VDR gerou um decréscimo da expressão de proteínas de transporte renal (50% a menos de TRPV 5). Dessa forma, nota-se que houve resultados completamente antagônicos entre esses estudos, o que pode estar relacionado a metodologias pouco criteriosas. Apesar disso, nota-se que o silenciamento de VDR causou mudanças na expressão dos transportadores e, dessa forma, pode haver um link importante entre o VDR e alterações na expressão das proteínas renais transportadoras de cálcio, que poderiam conduzir ao aumento da calciúria observada na HI.

Os três estudos realizados por Frick et al. (20, 21, 22) utilizaram uma metodologia rigorosa e semelhante para analisar a hipótese de presença exacerbada de VDR na patologia da HI. Além disso, tinham como objetivo localizar a importância de cada sítio (intestino, rins e ossos) no desenvolvimento da doença. De forma muito interessante, os resultados dos três estudos se somaram e permitiram uma visão ampla de como o VDR pode ser responsável pelos efeitos visualizados na HI. Ao partir de condições basais semelhantes (relacionadas aos transportadores de cálcio nos rins e a supressão do PTH) e de uma mesma alimentação, puderam-se comparar as mudanças que uma mesma quantidade de 1,25D gerava em ratos GHS e ratos controle. Os três estudos apontaram que a maior disponibilidade de VDR nos ratos GHS e a maior atividade desses receptores a partir de uma mesma quantidade de 1,25D seriam o ponto de partida da HI. Além do mais, ao anularem a interferência da absorção intestinal (alimentação pobre em cálcio), notarem a pouca variação dos transportadores renais de cálcio entre os grupos estudados e, finalmente, ao utilizarem grandes doses de alendronato para diminuir a reabsorção óssea e mesmo assim não haver equalização da calciúria entre os grupos, pôde inferir que a presença de grandes quantidades de VDR nos ossos seria o principal fator desencadeante das alterações observadas na HI. Entretanto, as diferenças entre as medições dos transportadores renais de cálcio entre os

estudos, não havendo clareza quanto a relação entre o aumento ou diminuição desses transportadores e a calciúria, e a impossibilidade de analisar separadamente os diferentes sítios de absorção renal não permitiram uma maior elucidação da importância de falhas renais na HI.

O estudo de Bai et al. (23) trouxe a evidência de um mecanismo importante que poderia elucidar o motivo da superexpressão de VDR e fortalecer os achados de Frick et al. Ao utilizar uma metodologia que misturou análises *in vitro* e *in vivo* os pesquisadores puderam ter uma visão amplificada do processo. Assim, chegou-se a identificação de um possível fator de transcrição, Snail, que seria um regulador importante na expressão do VDR ao se ligar ao gene promotor do receptor e diminuir sua transcrição. A supressão de Snail nos ratos GHS combinada com uma arquitetura genética mais favorável a transcrição do gene de VDR, permitiria uma maior expressão de VDR e conseqüentemente uma maior quantidade desses receptores nos ratos GHS.

Estudo de mais de quatro décadas atrás (32) mostrava que pacientes formadores de cálculos de cálcio com HI exibiam calciúria exagerada em resposta à ingestão oral de carboidratos comparados com pacientes normais. Esse achado estimulou a procura de fatores relacionados à alimentação que poderiam influenciar o desenvolvimento da HI. Evidências mais atuais sugeriram ao menos três candidatos (I, PTH e SCa) que poderiam mediar as alterações relacionadas à alimentação (33). Na presente revisão foram analisados dois estudos que trataram desse quesito. O estudo de Worcester et al. (24) foi mais amplo e analisou simultaneamente a influência dos três sinalizadores no aumento da calciúria pós prandial. Yoon et al. (25) se focou apenas na influência da insulina, com o cuidado de manter constante os níveis glicêmicos dos pacientes. Ambos os estudos possuíam metodologia rigorosa e controlaram fatores que poderiam confundir a análise. Apesar das variações que ocorria nos marcadores em relação aos estados pré e pós-alimentação, não houve qualquer indicativo de que essa variação era diferente entre os pacientes normais e os pacientes com HI. Dessa forma, não foi possível estabelecer quais fatores influenciam no aumento da calciúria pós-prandial nos pacientes com HI.

Na presente revisão identificaram-se apenas dois estudos que trataram mais diretamente da análise de fatores de risco da HI. Ambos analisaram principalmente a possibilidade da alta ingestão de sódio ser um fator importante no desenvolvimento da doença. O estudo de Damasio et al (26) encontrou uma relação positiva entre o consumo de sódio e a doença ao perceber que os pacientes com HI tinham uma ingestão diária de

sódio bem maior que os pacientes controle. Entretanto, a metodologia do estudo se mostrou bastante frágil ao apenas comparar a quantidade de sódio ingerida entre os grupos através de duas amostras não consecutivas de urina de 24h e não deixar claro qual o intervalo de tempo entre as amostras. Por outro lado, o estudo de Nouvenne et al (27) mostrou uma metodologia muito mais criteriosa e foi inovador ao utilizar uma amostra satisfatória e um período de observação de 3 meses entre a primeira amostra e a segunda amostra (estudos anteriores geralmente utilizaram amostras e intervalo de tempo menores). Nesse sentido, os resultados impressionaram ao mostrar que as dietas pobres em sódio foram capazes de diminuir ou até normalizar a calciúria de pacientes com HI, indicando uma forte evidência da alta ingestão de sódio como fator de risco da doença.

## VII. Conclusão

- 1) Os trabalhos acerca da hipercalciúria idiopática ainda estão bastante limitados a estudos experimentais que utilizam ratos modelos da doença humana. Os estudos com humanos ainda são raros, gerando dificuldades na extrapolação dos achados para a prática médica.
- 2) O principal mecanismo relacionado à gênese da HI foi a expressão aumentada de receptores de vitamina D (VDR). Esse aumento seria mais pronunciado nos ossos e o acréscimo na reabsorção óssea seria preponderante no aumento da calciúria.
- 3) A supressão do fator de transcrição Snail pode estar diretamente relacionado a expressão aumentada de VDR.
- 4) A análise das mudanças nas proteínas renais de transporte de cálcio na HI foi inconclusiva, pois houve grande variação dos achados entre os estudos. Não houve nenhuma evidência significativa de diferença entre os transportadores renais de cálcio na HI e na normalidade.
- 5) Não houve evidência de que a insulina e outros fatores relacionados à alimentação tenham relação com a excreção pós-prandial aumentada de cálcio vista na HI.
- 6) Observaram-se evidências significativas de que a alta ingestão de sódio pode ser considerada um fator de risco para o desenvolvimento da HI.

## VIII. Summary

### **IDIOPATHIC HYPERCALCIURIA: MECHANISMS AND RISK FACTORS**

**Background:** Renal lithiasis is a condition caused by a wide variety of factors, including metabolic disorders and anatomical defects with or without chronic urinary infections. Most causes of kidney stones are idiopathic, but environmental and lifestyle factors play a considerable role in the genesis of the disease. Idiopathic hypercalciuria (IH) occurs when there is an increased urinary excretion of calcium with normal serum calcium and other causes of increased calcium excretion are excluded such as vitamin D excess, metabolic acidosis, granulomatous tubular diseases, systemic steroids and hyperthyroidism. **Objective:** To contribute to the elucidation of the mechanisms related to the genesis of idiopathic hypercalciuria and risk factors for developing the disease, considering the importance of the disorder in the pathogenesis of nephrolithiasis. **Methods:** The work in question is a systematic review of the literature. Articles were searched in the databases PubMed, LILACS and ScieLO. **Results:** Ten articles met the inclusion criteria. These articles presented three different mechanisms related to IH: 1. Relation of vitamin D and its substrates, the vitamin D receptor (VDR) and changes described in idiopathic hypercalciuria; 2. mediators of postprandial calcium excretion in idiopathic hypercalciuria; 3. dietary effects in idiopathic hypercalciuria. **Discussion and Conclusion:** There is heterogeneity between the propositions of each work. Experimental studies with animal models were predominant in the analysis of mechanisms involved in IH, which makes it harder to extrapolate the findings to clinical practice. The main mechanism related to the genesis of IH was increased expression of vitamin D receptors (VDR). There was no evidence that insulin and other factors are involved in increased postprandial calcium excretion. Significant evidence suggests that high sodium intake can be considered a risk factor for the development of IH.

**Key words:** 1. Idiopathic hypercalciuria; 2. hypercalciuria; 3. Nephrolithiasis

**IX. Referências Bibliográficas**

1. D'Angelo A, Calo L, Cantaro S, Giannini S. Calcitropic hormones and nephrolithiasis. *Miner Electrolyte Metab.* 1997; 23(3–6): 269–72.
2. Curhan G, Willett W, Rimm E, Stampfer M. Family history and risk of kidney stones. *J Am Soc Nephrol.* 1997; 8: 1568–1573.
3. Buchholz NP, Abbas F, Afzal M, Khan R, Rizvi I, Talati J. The prevalence of silent kidney stones – an ultrasonographic screening study. *J Pak Med Assoc.* 2003; 53: 24–25.
4. Indridason OS, Birgisson S, Edvardsson VO, Sigvaldason H, Sigfusson N, Palsson R. Epidemiology of kidney stones in Iceland: a population- based study. *Scand J Urol Nephrol.* 2006; 40: 215–220.
5. Soucie JM, Thun MJ, Coates RJ, McClellan W, Austin H. Demographic and geographic variability of kidney stones in the United States. *Kidney Int.* 1994; 46: 893–899.
6. Ljunghall S, Danielson BG. A prospective study of renal stone recurrences. *Br J Urol.* 1984; 56: 122–124.
7. Coe FL, Evan A, Worcester E. Kidney stone disease. *J Clin Invest.* 2005; 115: 2598-608.
8. Curhan GC, Willett WC, Speizer FE, Stampfer MJ. Twenty-four-hour urine chemistries and the risk of kidney stones among women and men. *Kidney Int.* 2001; 59(6): 2290–2298.
9. Asplin JR, Parks JH, Lingeman J, Kahnoski R, Mardis H, Lacey S, et al. Supersaturation and Stone Composition in a Network of Dispersed Treatment Sites. *J Urol.* 1998; 159: 1821–1825.
10. Kumar V, Lieske JC. Protein regulation of intrarenal crystallization. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2006; 15: 374–380.
11. Marangella M, Bagnis C, Bruno M, Vitale C, Petrarulo M, Ramello A. Crystallization inhibitors in the pathophysiology and treatment of nephrolithiasis. *Urol Int.* 2004; 72: 6–10.
12. Bergsland KJ, Kelly JK, Coe BJ, Coe FL. Urine protein markers distinguish stone-forming from nonstone- forming relatives of calcium stone formers. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2006; 291(3): F530– F536.
13. Devuyst O, Pirson Y. Genetics of hypercalciuric stone forming diseases. *Kidney Int.* 2007; 72: 1065–1072.
14. Worcester EM, Coe FL. New insights into the pathogenesis of idiopathic hypercalciuria. *Semin Nephrol.* 2008; 28(2): 120-32.



15. van't Hoff WG. Aetiological factors in paediatric urolithiasis. *Nephron Clin Pract.* 2004; 98: 45–48.
16. Hodkinson A, Pyrah LN. The urinary excretion of calcium and inorganic phosphate in 344 patients with calcium stone of renal origin. *Br J Surg.* 1958; 48: 10–18.
17. Coe FL. Treated and untreated recurrent calcium nephrolithiasis in patients with idiopathic hypercalciuria, hyperuricosuria, or no metabolic disorder. *Ann Intern Med.* 1977; 87: 404–410.
18. Xi QL, Wang SG, Ye ZQ, Zhu ZW, Li C, Bai J, et al. Effect of silencing VDR gene in kidney on renal epithelial calcium transporter proteins and urinary calcium excretion in genetic hypercalciuric stone-forming rats. *Urology.* 2011;78(6): 1442 e1-7.
19. Xi QL, Wang SG, Ye ZQ, Liu J, Yu X, Zhu ZW, et al. Adenovirus-delivered microRNA targeting the vitamin D receptor reduces intracellular Ca(2)(+) concentrations by regulating the expression of Ca(2)(+)-transport proteins in renal epithelial cells. *BJU Int.* 2011; 107(8): 1314-9.
20. Frick KK, Asplin JR, Favus MJ, Culbertson C, Krieger NS, Bushinsky DA. Increased biological response to 1,25(OH)(2)D(3) in genetic hypercalciuric stone-forming rats. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2013; 304(6): F718-26.
21. Frick KK, Asplin JR, Krieger NS, Culbertson CD, Asplin DM, Bushinsky DA. 1,25(OH)(2)D(3)-enhanced hypercalciuria in genetic hypercalciuric stone-forming rats fed a low-calcium diet. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2013; 305(8): F1132-8.
22. Frick KK, Asplin JR, Culbertson CD, Granja I, Krieger NS, Bushinsky DA. Persistence of 1,25D-induced hypercalciuria in alendronate-treated genetic hypercalciuric stone-forming rats fed a low-calcium diet. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2014; 306(9): F1081-7.
23. Bai S, Wang H, Shen J, Zhou R, Bushinsky DA, Favus MJ. Elevated vitamin D receptor levels in genetic hypercalciuric stone-forming rats are associated with downregulation of Snail. *J Bone Miner Res.* 2010; 25(4): 830-40.
24. Worcester EM, Bergsland KJ, Gillen DL, Coe FL. Evidence for increased renal tubule and parathyroid gland sensitivity to serum calcium in human idiopathic hypercalciuria. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2013; 305(6): F853-60.
25. Yoon V, Adams-Huet B, Sakhaee K, Maalouf NM. Hyperinsulinemia and urinary calcium excretion in calcium stone formers with idiopathic hypercalciuria. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013; 98(6): 2589-94.
26. Damasio PC, Amaro CR, Cunha NB, Pichutte AC, Goldberg J, Padovani CR, et al. The role of salt abuse on risk for hypercalciuria. *Nutr J.* 2011; 10: 3.

27. Nouvenne A, Meschi T, Prati B, Guerra A, Allegri F, Vezzoli G, et al. Effects of a low-salt diet on idiopathic hypercalciuria in calcium-oxalate stone formers: a 3-mo randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2010; 91(3): 565-70.
28. Adams ND, Gray RW, Lemann JJ. Effects of calcitriol administration on calcium metabolism in healthy men. *Kidney Int.* 1982; 21: 90-97.
29. Maierhofer WJ, Gray RW, Cheung HS, Lemann J Jr. Bone resorption stimulated by elevated serum 1,25-(OH)<sub>2</sub>-vitamin D<sub>3</sub> concentration in healthy men. *Kidney Int.* 1983; 24: 555-60.
30. Bindels RJM, Hartog A, Timmermans J, Van Os CH. Activate Ca<sup>2+</sup> transport in primary cultures of rabbit kidney CCD: stimulation by 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and PTH. *Am J Physiol Renal Fluid Electrolyte Physiol.* 1991; 261: F799-F807.
31. Zerkekh JE, Reed BY, Heller HJ, Gonzales GB, Haussler MR, Park CY. Normal vitamin D receptor concentration and responsiveness to 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in skin fibroblasts from patients with absorptive hypercalciuria. *Miner Electrolyte Metab.* 1998; 24: 307-313.
32. Lemann J Jr, Piering WF, Lennon EJ. Possible role of carbohydrate-induced calciuria in calcium oxalate kidney-stone formation. *N Engl J Med.* 1969; 280: 232-237
33. Worcester EM, Gillen DI, Evan AP, Parks JH, Wright K, Trumbore I, et al. Evidence that postprandial reduction of renal calcium reabsorption mediates hypercalciuria of patients with calcium nephrolithiasis. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2007; 292: F66-F75.