



ORIGINALES

Alteraciones en el metabolismo mineral óseo en pacientes con urolitiasis de repetición y polimorfismos del gen del receptor de la vitamina D. Resultados preliminares

M.^a J. Moyano*, M.^a J. Gómez de Tejada**, R. García Lozano***, R. Moruno**, R. Ortega*, V. Martí*, R. Sánchez Palencia*, M. J. Miranda****, A. Palma* y R. Pérez Cano****

Servicios de *Nefrología y ****Medicina Interna del Hospital Virgen Macarena de Sevilla. **Departamento de Medicina de la Universidad de Sevilla. ***Servicio de Inmunología del Hospital Virgen del Rocío de Sevilla.

RESUMEN

Existe controversia sobre la afectación ósea en la litiasis renal cálcica. Por otro lado, algunos estudios genéticos han encontrado asociación entre los polimorfismos del receptor de la vitamina D (VDR) y la urolitiasis. **Objetivo principal:** Relacionar la nefrolitiasis cálcica de repetición con el metabolismo óseo y los polimorfismos del gen del VDR. **Material y métodos:** Estudio de casos y controles, estando el grupo de casos formado por 51 pacientes con litiasis renal de repetición, que subdividimos en no hipercalcémicos (NHC, n = 27), hipercalcémicos asintomáticos (HCA, n = 10) e hipercalcémicos renales (HCR, n = 14); el grupo control, formado por 21 sujetos sin historia de litiasis renal ni hipercalcemia. Se les determinaron parámetros del metabolismo fosfo-cálcico, marcadores de remodelado óseo, densidad mineral ósea (DMO) en columna lumbar y en cuello femoral, y polimorfismos del gen del VDR para los loci b, a y t. **Resultados:** Los pacientes litiasicos presentaron frente a los controles una DMO inferior tanto en L2-L4 como en cuello femoral (Z-score, p = 0,045 y 0,031), niveles superiores de 1,25 (OH)₂ vitamina D (p = 0,002) e inferiores de PTH (p = 0,049), y una menor ingesta cálcica (p < 0,001). Los HCA mostraron una mayor DMO frente a los NHC (sólo significativo en cuello femoral). Los pacientes con LRC no mostraron diferencias en las frecuencias genotípicas estudiadas frente a los controles. Al reagrupar los alelos, sólo se apreció una menor frecuencia del genotipo BB respecto al Bb-bb, y del tt frente al TT-Tt, en los pacientes litiasicos (p = 0,098 y p = 0,051, respectivamente). **Conclusiones:** La litiasis renal cálcica parece influir en la DMO de cuello femoral. Los pacientes litiasicos mostraron niveles elevados de 1,25 (OH)₂ vitamina D, posiblemente relacionado con la baja dieta cálcica. Los genotipos homocigóticos BB y tt parecen ser menos frecuentes entre los pacientes con litiasis renal cálcica.

Palabras clave: **Litiasis renal cálcica. Hipercalcemia asintomática. Hipercalcemia renal. Densidad mineral ósea. Polimorfismos del receptor de la vitamina D. Ingesta cálcica habitual.**

Correspondencia: Dra. María Jesús Moyano Franco
C/ Mosquera de Figueroa, 18, escalera 1, 2º D
41010 Sevilla (España)
E-mail: medicimon@yahoo.es

**ALTERATIONS IN BONE MINERAL METABOLISM IN PATIENTS WITH
CALCIUM KIDNEY STONE DISEASE AND POLYMORPHISM OF VITAMIN D
RECEPTOR. PRELIMINARY RESULTS**

SUMMARY

*Bone health, within calcium kidney stone disease is a matter of controversy. On the other hand, some genetic studies have shown an association between some Vitamin D receptor polymorphisms and calcium kidney stone disease. **Main objective:** To study the possible association between calcium kidney stone disease with bone metabolism and some Vitamin D receptor polymorphisms. **Patients and methods:** This is a case-control study, with seventy-two subjects of both genders divided into two groups: Group I: cases, composed by 51 patients suffering from calcium kidney stone disease. Twenty-four of them had no hypercalciuria, 16 had absorptive hypercalciuria and 11 had renal hypercalciuria. Group II: controls, composed by 21 people, without either urolithiasis or hypercalciuria. We performed a complete study including biochemical markers of bone mineral remodelling, bone mineral density (BMD) was estimated both in the lumbar spine (L2-L4) and femoral neck, and also VDR polymorphism for the loci b, a and t. **Results:** Patients with urolithiasis had lower values of BMD both in the lumbar spine and femoral neck, compared to controls. Z-score were lower in the lumbar spine and femoral neck ($p = 0.045$ y 0.031 , respectively). Those patients with absorptive hypercalciuria had higher BMD in the femoral neck than those with renal hypercalciuria and non-hypercalciuria. Because they had more weight and height all the statistical study was performed after adjusting by these two variables and statistical significance was then only stated between patients with hypercalciuria and without it. Patients with urolithiasis had higher values of 1.25 (OH) $_2$ vitamin D ($p = 0.002$), and lower of PTH ($p = 0.049$), without any relationship to hypercalciuria and its subtypes. Seventy six percent of the patients had a daily calcium intake lower than 800 mg/day. The distribution of VDR alleles in patients with urolithiasis was similar to controls, although after grouping genotypes, a lower distribution of BB and tt polymorphisms were observed in patients suffering from urolithiasis. **Conclusions:** Calcium kidney stone disease by itself produces a decrease in BMD, more intense in femoral neck, independently the presence or absence of hypercalciuria. Patients suffering from urolithiasis have higher values of 1.25 (OH) $_2$ vitamin D than non-hypercalciuric patients and lower values of PTH probably due to a low dietary calcium intake. In our population studied there is no relationship between VDR polymorphisms and the presence of calcium kidney stone disease. Because the reduced number of patients of our study, more studies are needed to obtain definitely conclusions.*

Key words: Calcium kidney stone disease. Absorptive hypercalciuria. Renal hypercalciuria. Bone mineral density. Calcium intake. Vitamin D polymorphism.

INTRODUCCIÓN

La litiasis renal (LR) más frecuente es la cálcica, con predominio de la formada por cálculos de oxalato cálcico¹. Diversos estudios prospectivos han demostrado que la litiasis cálcica es recurrente, apareciendo el segundo cálculo entre 5 y 10 años tras el primero²⁻⁴. En, aproximadamente, el 50% de los pacientes con litiasis cálcica se encuentra hipercalciuria que, al no responder a un trastorno metabólico identificado, se considera como hipercalciuria idiopática⁵.

Aunque un incremento en la ingesta de sodio y proteínas y una reducción de potasio incrementan la excreción urinaria de calcio, no parecen ser los principales responsables de la hipercalciuria⁶.

Algunos investigadores han comprobado que los pacientes con LR, particularmente los que cursan con hipercalciuria, pueden tener una reducción de la masa ósea, con frecuencia asociado con un incremento del remodelado óseo⁷⁻¹¹. Sin embargo, los resultados no son del todo concluyentes al respecto; por otro lado, hay controversia sobre si estos hallaz-

gos se han relacionado con todos los pacientes hipercalemiúricos^{8,10,11} o sólo con aquéllos que presentan hipercalemiuria renal¹².

Además, varios estudios han concluido que los genotipos del receptor de la vitamina D tienen influencia en la absorción intestinal y/o en la eliminación renal de calcio, tales como el *b*, el *a* y el *t*^{13,14}. Esto podría tener interés en la litiasis renal cálcica (LRC), de manera que constituyera un factor a considerar en su etiopatogenia, e incluso en relación al tipo de hipercalemiuria, tanto renal¹⁵ como absorptiva¹⁶. Sin embargo, no existe unanimidad a la hora de aceptar esta influencia genética ya que los resultados obtenidos son discrepantes¹⁷⁻¹⁹.

Por todo ello, el objetivo principal de nuestro trabajo fue estudiar la relación de la litiasis renal de oxalato cálcico (LRC) de repetición con la baja densidad mineral ósea (DMO), así como con los polimorfismos de los *loci b*, *a* y *t* del gen del VDR. Secundariamente, se valoró si la presencia de hipercalemiuria (HC) y sus tipos (absorptiva y renal) pudieran influir en dichas relaciones. En este trabajo mostramos resultados preliminares, estando pendientes de ampliar el número de casos y controles para completar los objetivos.

PACIENTES Y MÉTODO

Hemos realizado un estudio de casos y controles, en el que seleccionamos a un total de 72 sujetos, distribuidos de la siguiente forma: 51 pacientes que padecían LRC de repetición y larga evolución, constatada objetivamente por el análisis bioquímico del cálculo, que constituyeron el grupo de casos. Un grupo control, formado por 21 sujetos voluntarios, elegidos al azar, comparables en sexo y edad a los seleccionados. Ninguno de estos sujetos había tenido nunca episodios de nefrolitiasis. Todos, pacientes y controles, tenían una función renal normal.

Se siguieron los siguientes criterios de exclusión:

- Aquellos pacientes que padecían enfermedades con posible influencia sobre el metabolismo óseo: endocrinopatías (hiper-hipoparatiroidismo, hipertiroidismo), HTA, insuficiencia renal, neumopatías, trastornos neurológicos (déficit motor), enfermedades inflamatorias del aparato locomotor, hepatopatía crónica, alcoholismo, trasplante de órganos, hipogonadismo y malabsorción.
- Aquellos sujetos que tomaban medicación con influencia sobre el metabolismo óseo: corticoides orales o inhalados durante más de 3 meses; antiepilépticos, anticoagulantes, análogos GnRH, antihipertensivos, tiazidas, calcio, vitamina D, anticonceptivos, hormonas sexuales masculinas, calcitonina, bisfosfonatos o isoflavonas y

tratamiento hormonal sustitutivo en las mujeres.

- Entre los sujetos del grupo control se excluyó a aquéllos que presentaron hipercalemiuria basal o historia de litiasis renal.

Una vez recogidos los casos, se reagrupó a los pacientes con litiasis en los siguientes subgrupos: sujetos sin hipercalemiuria (NHC) y sujetos con hipercalemiuria (HC), que clasificamos a su vez en hipercalemiuria absorptiva (HCA) e hipercalemiuria renal (HCR). La calciuria se midió en orina de 24 horas en condición basal. Se consideró hipercalemiuria la eliminación de calcio superior a 250 mg/24 horas en las mujeres y 300 mg en los hombres, o superior a 4 mg/kg/día en ambos. Dado que la mayoría de los pacientes litiasicos tenían una ingesta muy baja o nula de lácteos, se consideró también hipercalemiuria los valores superiores de 200 mg/24 h (en ambos sexos) que iban acompañados de unos índices calcio/creatinina tras restricción superiores a 0,11. Para la clasificación de la hipercalemiuria se sometió a los pacientes litiasicos a una dieta pobre en calcio (aproximadamente 400 mg de calcio/día) durante una semana; la dieta consistió en suprimir de la alimentación la leche y todos sus derivados, sin restricción de proteínas. Al 7º día, se recogió de nuevo la diuresis de 24 h (de 8 h de la mañana a la misma hora del día siguiente) para determinar la calciuria tras restricción, y la orina de las 2 horas posteriores (de 8 a 10 h) para establecer el cociente calcio/creatinina. Posteriormente se realizó una sobrecarga oral de calcio, que consistió en dar al paciente 1 g de calcio y un preparado lácteo (147 mg de calcio en 230 ml); a continuación, se recogió la orina de las 4 horas siguientes (de 10 a 14 h).

Se consideró hipercalemiuria absorptiva cuando tras la dieta baja en calcio el índice calcio/creatinina (Ca/Cr) en orina era $< 0,11$.

Se consideró hipercalemiuria renal cuando tras la restricción dietética el índice Ca/Cr era $> 0,11$ y tras sobrecarga cálcica éste valor era mayor de 0,20 o duplicaba el valor tras restricción.

Cuestionario

A todos los sujetos estudiados se les hizo un cuestionario sobre los hábitos dietéticos de ingesta de lácteos, y en función del mismo, se cuantificó y clasificó la ingesta cálcica habitual en: insuficiente (< 800 mg de calcio al día) o suficiente (> 800 mg al día).

Determinaciones analíticas

A todos los sujetos se les realizó extracciones sanguíneas basales, realizadas en ayunas de 12 horas a

primera hora de la mañana, a partir de las cuales se les determinó:

Hemograma: mediante contador de células automático modelo STKS de Coulter Científica; perfil bioquímico general: mediante autoanalizador DAX-96, que incluye mediciones séricas de glucosa, urea, ácido úrico, creatinina, albúmina, calcio, fósforo, fosfatasa alcalina total, bilirrubina total, transaminasas, gammaglutamil-transpeptidasa, colesterol total, así como mediciones urinarias de calcio, fósforo y creatinina; niveles séricos de hormonas calcitropas: PTH, mediante técnica de electroquimioluminiscencia, y 1-25 (OH)₂ vitamina D, mediante técnica de radioinmunoanálisis (RIA); niveles séricos de marcadores de remodelado óseo, de formación (osteocalcina —OC—) y de resorción (β -crosslaps), ambos mediante técnica de electroquimioluminiscencia.

Estudio genético

Se determinaron los polimorfismos de los alelos del gen del VDR a partir del ADN extraído de leucocitos de sangre periférica, mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR-RFLP), dirigida a mostrar la presencia o ausencia de un locus para las enzimas de restricción BsmI, Apal y TaqI, siendo los alelos *b*, *a* y *t* indicadores de la presencia de *locus* para los respectivos enzimas, y *B*, *A* y *T* los indicadores de su ausencia (respectivamente).

Densitometría ósea

La DMO se midió por Absorciometría Radiológica Dual (DXA), con un densitómetro HOLOGIC® modelo QDR-1000, en dos localizaciones: fémur proximal derecho y columna lumbar (L2-L4). En fémur proximal, la zona registrada fue el cuello femoral. El coeficiente de variación del aparato *in vivo* es del 2,9% en cuello de fémur y 1,4% en columna lumbar; e *in vitro*, del 3,41% y 0,53%, respectivamente. Dado que el rango de edad de los sujetos estudiados fue muy amplio y fueron de ambos sexos, además de expresar la masa ósea como valores absolutos de DMO, se utilizó la *Z-score*, como valor relativo al grupo de edad y sexo del individuo. No se consideró la *T-score* (valor relativo al pico de masa ósea poblacional) por haber un grupo de sujetos que no alcanzaban la edad de dicho pico (alrededor de los 30 años). Las *Z-scores* se obtuvieron en referencia a la normalidad de la población local²⁰, siguiendo la siguiente fórmula:

DMO del individuo - DMO media de su grupo de edad y sexo

Z-score = Desviación típica de su grupo de edad y sexo

Análisis estadístico

Para el procedimiento estadístico se utilizó el programa SPSS (versión 14.0). Se realizó un análisis descriptivo mediante medidas de tendencia central y de dispersión de los datos valorados. Las medias de las determinaciones de DMO, determinaciones analíticas y resto de parámetros estudiados se compararon mediante *t* de Student para muestras independientes en los casos que las variables presentaban distribución normal y el test de Mann-Whitney en las no paramétricas. Las distintas variables se correlacionaron mediante el coeficiente de correlación de Pearson. Cuando fue necesario, se realizó modelos de regresión para ajustar por variables. En todos los casos se consideró como nivel de significación estadística un valor de $p < 0,05$. El tamaño muestral tuvo el suficiente potencial estadístico para alcanzar el objetivo principal.

RESULTADOS

El grupo de casos estuvo formado por 51 sujetos, con edades comprendidas entre 16 y 68 años. La distribución por sexos fue 29 mujeres y 22 varones. El grupo de controles, formado por 21 sujetos que tenían edades comprendidas entre 19 y 70 años, estaba distribuido en 12 mujeres y 9 varones.

En la tabla I mostramos las características basales de ambos grupos, control y litíasicos: edad, sexo, peso, talla e índice de masa corporal (IMC). No hubo diferencias significativas entre ellos. En la misma tabla se recogen los parámetros del metabolismo fosfo-cálcico (calcemia, calciuria, fosfatemia, fosfaturia, 1,25 (OH)₂ vitamina D y PTH), la DMO y los marcadores de remodelado óseo entre estos dos grupos. La calciuria basal, como era de esperar, fue más elevada en los pacientes litíasicos de forma estadísticamente significativa ($p < 0,001$), así como los valores medios de 1,25 (OH)₂ vitamina D ($p = 0,002$), estando, además, por encima de los valores normales (50-105 pmol/l). Los valores de PTH también fueron significativamente inferiores en los pacientes litíasicos ($p = 0,049$). El resto de parámetros del metabolismo fosfo-cálcico (calcemia, fosfatemia, fosfaturia) mostraron unos valores normales y sin diferencias significativas entre ambos grupos.

Respecto a los marcadores de remodelado óseo, no hubo diferencias significativas entre pacientes litíasicos y controles, tanto en el de formación (osteocalcina) como en el de resorción (β -crosslaps). Tampoco se observó diferencias en los valores absolutos de DMO de las dos localizaciones estudiadas, aunque sus valores fueron más bajos en el grupo de pacientes

Tabla I. Comparación de los valores de los parámetros estudiados entre los pacientes litiásicos y los controles (media \pm desviación típica)

	litiásis (n = 51)	control (n = 21)	p
Edad (años)	45,5 \pm 13,5	48,6 \pm 15,4	0,400
Sexo ($\beta/\bar{\alpha}$)	22/29	9/12	0,983
Peso (kg)	77,0 \pm 16,7	77,9 \pm 10,4	0,986
Talla (cm)	162,3 \pm 7,8	163,3 \pm 12,2	0,669
IMC (kg/cm ²)	29,1 \pm 5,2	29,3 \pm 5,7	0,917
Ingesta de lácteos < 800 mg/día (%)	76,0	0,0	< 0,001
Calciuria basal (mg/24 h)	221,7 \pm 122,3	122,2 \pm 51,9	< 0,001
Calcemia (mg/dl)	9,4 \pm 0,4	9,4 \pm 0,3	0,496
Fosfaturia (mg/24 h)	629,3 \pm 258,8	566,1 \pm 240,6	0,348
Fosfatemia (mg/dl)	3,4 \pm 0,5	3,3 \pm 0,6	0,929
Hiper calciuria (%)	52,9	0,0	< 0,001
1,25 (OH) ₂ Vitamina D (pmol/l)	121,1 \pm 46,4	84,7 \pm 30,2	0,002
PTH (pg/ml)	39,0 \pm 15,6	52,9 \pm 28,5	0,049
Osteocalcina (ng/ml)	20,8 \pm 12,8	24,7 \pm 11,0	0,244
β -crosslaps (mg/ml)	0,45 \pm 0,29	0,47 \pm 0,21	0,755
DMO L2-L4 (g/cm ²)	0,942 \pm 0,144	1,001 \pm 0,132	0,091
Z-score L2-L4	-0,5 \pm 1,4	0,3 \pm 1,4	0,045
DMO cuello femoral (g/cm ²)	0,805 \pm 0,130	0,849 \pm 0,085	0,105
Z-score cuello femoral	-0,08 \pm 1,03	0,5 \pm 1,0	0,031

litiásicos. Al considerar la Z-score, la diferencia sí se hizo significativa ($p = 0,045$ en columna lumbar y $p = 0,031$ en cuello femoral).

No hubo diferencias significativas entre los pacientes litiásicos con hiper calciuria (HC) y los que no la presentaban (NHC) en ninguno de los parámetros analizados, a excepción lógica de la calciuria basal ($p = 0,000$). Los valores medios de 1,25 (OH)₂ vitamina D fueron elevados en ambos grupos (por encima del rango de normalidad), y algo superiores en los pacientes hiper calciúricos, mientras que la PTH fue menor. Por otro lado, los valores de DMO en cuello femoral, menores en los pacientes NHC, mostraron una tendencia a la significación estadística ($p = 0,056$).

Los resultados de compara los 3 subgrupos de pacientes litiásicos (NHC, HCA e HCR) entre sí se muestran en la tabla II. Los pacientes con HCA tenían significativamente mayores peso y talla que los pacientes con HCR ($p = 0,042$ y $0,027$, respectivamente) y que los NHC ($p = 0,021$ y $0,022$, respectivamente), pero no hubo diferencias entre los NHC y los HCR. También mostraron una calciuria basal superior a la de los que tenía HCR ($p = 0,008$). Los valores medios de 1,25 (OH)₂ vitamina D estaban elevados y por encima del rango normal (50-105 pmol/l) en ambos tipos de HC. Sólo los parámetros densitométricos en cuello femoral resultaron ser significativamente más altos en los pacientes con HCA respecto a los HCR (DMO, $p = 0,007$; y Z-score = $0,025$) y a los NHC

(DMO, $p = 0,002$; y Z-score = $0,007$). Al ajustar por peso y talla desapareció la significación entre los HCA y los HCR ($p = 0,104$ y $p = 0,085$, respectivamente), pero se mantuvo entre los HCA y los NHC ($p = 0,021$ y $p = 0,032$, respectivamente).

Por último, comparamos los pacientes litiásicos no hiper calciúricos con el grupo control (tabla III), para ver si la LR por sí misma puede influir en los parámetros estudiados, independientemente de la presencia de hiper calciuria. Sólo hubo diferencias significativas en la 1,25 (OH)₂ vitamina D, que siguió siendo más elevada en los pacientes litiásicos NHC ($p = 0,023$), y la PTH, que fue más baja rozando la significación estadística ($p = 0,051$). La DMO resultó inferior en el grupo de pacientes litiásicos sin hiper calciuria, siendo significativo sólo en el cuello femoral (DMO, $p = 0,025$; Z-score = $0,007$).

Se realizó correlaciones entre las distintas variables, apreciándose sólo una débil correlación positiva entre la hiper calciuria basal y la 1,25 (OH)₂ vitamina D ($r = 0,395$; $p = 0,001$).

Respecto a la ingesta habitual cálcica, fue significativamente más baja en el grupo de pacientes con LR respecto el grupo control (tablas I y III), siendo semejante entre los distintos subgrupos derivados del primero (tabla II).

Se compararon las frecuencias de aparición de los distintos alelos correspondientes a los loci del gen del VDR estudiados, *b*, *a* y *t*, entre los pacientes litiásicos

Tabla II. Estudio comparativo de los valores de los parámetros estudiados entre los pacientes litíasicos NHC, con HCA e HCR (media \pm desviación típica)

	NHC (n = 27)	HCA (n = 10)	HCR (n = 14)	p
Edad (años)	43,9 \pm 14,8	48,9 \pm 11,7	46,1 \pm 12,2	NS
Peso (kg)	74,5 \pm 12,9	89,6 \pm 24,9	72,9 \pm 12,5	0,042 [‡] 0,021 [§]
Talla (cm)	161,2 \pm 7,7	167,6 \pm 5,1	160,6 \pm 8,2	0,027 [‡] 0,022 [§]
IMC (kg/cm ²)	28,6 \pm 4,1	31,7 \pm 7,2	28,4 \pm 5,3	NS
Ingesta de lácteos < 800 mg/día (%)	76,9	60,0	85,7	NS
Calciuria basal (mg/24 h)	130,7 \pm 60,1	377,4 \pm 90,1	286,1 \pm 63,5	0,008 [‡] 0,000 [§] 0,000 [¶]
Calcemia (mg/dl)	9,4 \pm 0,5	9,6 \pm 0,2	9,4 \pm 0,3	NS
Fosfatemia (mg/24 h.)	577,8 \pm 213,1	793,4 \pm 452,4	656,7 \pm 213,8	NS
Fosfatemia (mg/dl)	3,5 \pm 0,3	3,2 \pm 0,8	3,2 \pm 0,6	NS
1,25 (OH) ₂ Vitamina D (pmol/l)	113,4 \pm 48,9	140,8 \pm 42,5	121,4 \pm 43,1	NS
PTH (pg/ml)	39,5 \pm 17,4	36,9 \pm 9,9	39,5 \pm 16,0	NS
Calciuria tras restricción (mg/24 h)	109,3 \pm 45,5	292,0 \pm 142,4	274,6 \pm 139,3	NS [‡] 0,001 [§] 0,000 [¶] 0,000 [‡] 0,035 [§] 0,000 [¶]
Índice Ca/Cr presobrecarga	0,08 \pm 0,05	0,08 \pm 0,03	0,20 \pm 0,06	0,003 [‡] 0,002 [¶]
Índice Ca/Cr postsobrecarga	0,3 \pm 0,18	0,27 \pm 0,08	0,53 \pm 0,22	NS
Osteocalcina (ng/ml)	21,4 \pm 1,0	16,6 \pm 14,9	23,2 \pm 17,4	NS
β -crosslaps (mg/ml)	0,42 \pm 0,22	0,46 \pm 0,33	0,52 \pm 0,40	NS
DMO L2-L4 (g/cm ²)	0,952 \pm 0,168	0,972 \pm 0,128	0,901 \pm 0,097	NS
Z-score L2-L4	-0,3 \pm 1,4	-0,2 \pm 1,6	-1,1 \pm 1,1	NS
DMO cuello femoral (g/cm ²)	0,773 \pm 0,125	0,921 \pm 0,089	0,783 \pm 0,123	0,007 ^{**} 0,002 ^{§*}
Z-score cuello femoral	-0,3 \pm 0,9	0,75 \pm 1,13	-0,33 \pm 1,01	0,025 ^{**} 0,007 ^{§*}

[‡] Entre HCA-HCR; [§] Entre NHC-HCA; [¶] Entre NHC-HCR.

^{**} Al ajustar por peso y talla, los valores de p fueron: DMO, 0,104; Z-score, 0,085.

^{§*} Al ajustar por peso y talla, los valores de p fueron: DMO, 0,021; Z-score, 0,032.

NS: no significativo.

y los controles (tabla IV). No hubo diferencia significativa en las distribuciones, siendo en ambos grupos más frecuentes los alelos heterocigóticos (*Bb*, *Aa* y *Tt*). Al reagrupar los alelos, uniendo los que mostraban el carácter de presencia (*Bb-bb*, *Aa-aa*, *Tt-tt*) frente a los homocigóticos de ausencia (*BB*, *AA* y *TT*), sólo se apreció una tendencia a presentar menor frecuencia del alelo *BB* respecto al agrupado *Bb-bb*, aunque sin llegar al nivel de significación ($P = 0,098$). Agrupándolos por el carácter de ausencia (*BB-Bb*, *AA-Aa*, *TT-Tt*) frente a los homocigóticos de presencia (*bb*, *aa* y *tt*), sólo fue débilmente significativa ($p = 0,051$) la menor frecuencia del alelo *tt* frente al grupo *TT-Tt*. No hubo diferencias significativas al agrupar los alelos homocigóticos frente a los heterocigóticos (tabla IV). No mostramos los resultados de comparar las frecuencias de alelos dentro del grupo de litiasis-

cos según la presencia de hipercalcemia o no y el tipo de hipercalcemia, porque los subgrupos resultantes mostraban unas frecuencias muy bajas, sin posibilidad de obtener unas conclusiones definitivas desde el punto de vista estadístico.

DISCUSIÓN

Tanto la litiasis renal cálcica como la hipercalcemia idiopática son alteraciones con múltiples, y aún no del todo conocidos, mecanismos etiopatogénicos, muchos de los cuales no hemos considerado aquí por no ser nuestro objetivo. Existe acuerdo general en que, aproximadamente, el 50% de las hipercalcemias idiopáticas no pueden ser clasificadas dentro de los tipos definidos por Pak⁵; esta dificultad provoca la di-

Tabla III. Comparación de los valores de los parámetros estudiados entre los pacientes litíasicos NHC y el grupo control (media \pm desviación típica)

	NHC (n = 27)	control (n = 21)	p
Edad (años)	44,0 \pm 14,8	48,6 \pm 15,4	0,294
Peso (kg)	74,5 \pm 12,9	74,5 \pm 12,9	0,470
Talla (cm)	161,2 \pm 7,7	161,2 \pm 7,7	0,475
IMC (kg/cm ²)	28,6 \pm 4,1	29,3 \pm 5,7	0,656
Ingesta de lácteos < 800 mg/día (%)	76,9	0,0	0,000
Calciuria basal (mg/24 h)	130,7 \pm 60,1	122,2 \pm 51,9	0,611
Calcemia (mg/dl)	9,4 \pm 0,5	9,4 \pm 0,3	0,804
Fosfatemia (mg/24 h)	577,8 \pm 213,1	566,1 \pm 240,6	0,861
Fosfatemia (mg/dl)	3,5 \pm 0,3	3,3 \pm 0,6	0,412
1,25 (OH) ₂ Vitamina D (pmol/l)	113,4 \pm 48,9	84,7 \pm 30,2	0,023
PTH (pg/ml)	39,5 \pm 17,4	52,9 \pm 28,5	0,051
Osteocalcina (ng/ml)	21,4 \pm 1,0	24,7 \pm 11,0	0,296
β -crosslaps (mg/ml)	0,42 \pm 0,22	0,47 \pm 0,21	0,395
DMO L2-L4 (g/cm ²)	0,952 \pm 0,168	1,001 \pm 0,132	0,240
Z-score L2-L4	-0,3 \pm 1,4	0,3 \pm 1,4	0,173
DMO cuello femoral (g/cm ²)	0,773 \pm 0,125	0,849 \pm 0,085	0,025
Z-score cuello femoral	-0,3 \pm 0,9	0,5 \pm 1,0	0,007

versidad de resultados en los trabajos diseñados para su estudio, que carecen de uniformidad en la protocolización de los grupos. Es por ello que, con el fin de facilitar y definir claramente los tipos de hipercalciuria, la clasificación que hemos realizado ha sido simplificada. Añadir que se trata de un estudio del cual estamos mostrando resultados preliminares, por lo que el número de sujetos por subgrupos es aún bajo.

Hemos apreciado en los pacientes litíasicos una menor masa ósea respecto a los controles sanos según los parámetros densitométricos tanto de columna como de fémur, aunque esta diferencia sólo ha sido estadísticamente significativa a nivel de las Z-scores. Estos resultados concuerdan con los observados en estudios anteriores⁷⁻¹¹, que señalan una influencia negativa de la LRC sobre la DMO. Laderdale y cols. encuentran una menor DMO en los pacientes con LR del NHANES III, más claramente en los varones (en este estudio la medición de DMO se realizó sólo en fémur proximal), así como una mayor prevalencia de fracturas vertebrales y de muñeca¹⁹. Melton y cols. también encuentran mayor frecuencia de fractura vertebral en los pacientes con urolitiasis²¹. Ambos autores apuntan como causa la baja dieta cálcica que estos pacientes hacen habitualmente. Por el contrario, Asplin y cols.²², realizaron un estudio similar al nuestro, en un total de 59 sujetos de ambos sexos procedentes de 11 familias, de los que 22 eran litíasicos, y al contrario, no encuentra diferencias en la DMO (expresada como Z-score) ni de columna ni de fémur entre ambos grupos. Pero tampoco encuen-

tran valores diferentes de 1,25 (OH)₂ vitamina D entre ellos, lo cual como veremos más adelante puede explicar las diferencias con nuestros resultados. Tsuji y cols., en un estudio realizado en 310 pacientes con litiasis renal de ambos sexos, obtienen que un 27% de ellos tenían baja DMO, sin mostrar diferencias con los sujetos controles (23,5%); aunque la frecuencia aumentó de forma significativa al considerar sólo a las mujeres con hipercalciuria, alcanzando el 40%, y el 65% cuando la HC fue de causa no dietética (p < 0,01). Además, es de destacar que en este estudio se excluyó a los pacientes con restricciones dietéticas y no se realizaron determinaciones de 1,25 (OH)₂ vitamina D²³.

Sin embargo, al comparar dentro del grupo de los litíasicos aquellos que tenían hipercalciuria (HC) frente a los no hipercalciúricos (NHC), obtuvimos datos contradictorios: la masa ósea fue semejante en columna lumbar, mientras que en cuello femoral se apreciaron valores mayores en los HC, y con tendencia a la significación estadística. Vezzoli y cols., en un estudio realizado en mujeres litíasicas con y sin hipercalciuria, encuentran menor DMO en columna, pero no en fémur, de las mujeres postmenopáusicas con HC y una alta absorción de calcio. No realizan comparación con sujetos controles²⁴. Sin embargo, Caudarella y cols. realizaron un estudio semejante en el que midieron la DMO en radio, sin obtener diferencias entre HC y NHC²⁵. Pietschmann y cols., encuentran una menor DMO en columna de los pacientes litíasicos HC frente a los NHC, pero no en la

Tabla IV. Frecuencia de aparición de los distintos alelos de los polimorfismos del VDR estudiados, separados y agrupados entre sí, en los casos y controles

Alelos (%)	LRC (51)	Controles (21)	p
BB	9,8	25,0	0,237
Bb	49,0	45,0	
bb	41,2	30,0	
AA	21,6	35,0	0,492
Aa	56,9	45,0	
aa	21,6	21,6	
TT	30,0	41,2	0,141
Tt	45,0	51,0	
tt	25,0	7,8	
bb	41,2	30,0	0,383
BB, Bb	58,8	70,0	
aa	21,6	20,0	0,884
AA, Aa	78,4	80,0	
tt	7,8	25,0	0,051
TT,Tt	92,2	75,0	
BB	9,8	25,0	0,098
Bb,bb	90,2	75,0	
AA	21,6	35,0	0,242
Aa,aa	78,4	65,0	
TT	41,2	30,0	0,383
Tt,tt	58,8	70,0	
Bb	49,0	45,0	0,760
BB,bb	51,0	55,0	
Aa	56,9	45,0	0,367
AA,aa	43,1	55,0	
Tt	51,0	45,0	0,650
TT,tt	49,0	55,0	

DMO del radio⁸. Esto podría plantear la hipótesis de una distinta influencia de la hiper calciuria en la masa ósea de las diversas localizaciones medidas; hemos visto cómo en nuestro estudio, las diferencias significativas de DMO se mostraban en fémur y no en columna. Gianini y cols., en un estudio realizado en mujeres postmenopáusicas osteoporóticas, concluyeron que la hiper calciuria era un hallazgo frecuente en ellas, pero no encontraron diferencias en la masa ósea entre las que presentaban esta alteración y las que no, tanto en columna como en cadera²⁶. Sí es cierto que existen distintos mecanismos etiopatogénicos que producen hiper calciuria, y que pueden dar lugar a influencias contrarias, o al menos distintas, sobre el hueso, lo cual explicaría la diversidad de resultados en estos estudios.

En nuestro trabajo, dentro del grupo de pacientes litiásicos únicamente se apreció diferencias en la DMO relacionadas con la calciuria o sus tipos en

cuello femoral de los pacientes con HCA, y sólo al comparar con los pacientes litiásicos NHC. El hecho de encontrar una menor y significativa DMO en cuello femoral de los pacientes litiásicos NHC frente a los controles, apoya nuestra creencia de que la litiasis renal por sí misma, e independientemente de la presencia o no de hiper calciuria y sus tipos, afecta negativamente sobre la DMO, y más claramente en cadera. Tasca y cols., encuentran menor DMO sólo en columna y no en fémur de los pacientes con HCR frente a los sujetos controles²⁷. Deutschmann y cols. encuentran que la hiper calciuria renal es una de las principales alteraciones halladas en un importante grupo de pacientes con osteoporosis idiopática²⁸. De nuevo, la explicación de estos resultados diversos puede estribar en la falta de unanimidad a la hora de clasificar las hiper calciurias y a la variedad de mecanismos patogénicos que pueden causarlas.

Los pacientes litiásicos muestran unos niveles altos de vitamina D (por encima de los valores normales de referencia) y en todos sus subgrupos (NHC, HCA e HCR), sin existir diferencias significativas entre estos últimos. Los valores de 1,25 (OH)₂ vitamina D superiores en los litiásicos respecto a los controles fueron claramente significativos. Entre las causas de estos valores altos de 1,25 (OH)₂ vitamina D pueden estar la hipofosfatemia, el hiperparatiroidismo y la propia hiper calciuria idiopática. Sin embargo, nuestros pacientes litiásicos muestran una fosfatemia media normal y unos niveles de PTH más bajos que los controles, esto posiblemente debido a que la glándula paratiroidea se ve frenada por los altos niveles de 1,25 (OH)₂ vitamina D. La hiper calciuria idiopática podría ser la causa, pero la no existencia de diferencia de 1,25 (OH)₂ vitamina D entre los pacientes litiásicos NHC e HC lo cuestiona. Una posible explicación, aunque no demostrable en este trabajo, vendría dada por la restricción de calcio en la dieta que muestran los pacientes litiásicos, que podría ser el estimulante de una mayor producción de 1,25 (OH)₂ vitamina D para aumentar la absorción intestinal de calcio. Esta explicación coincide con la de Hess, que recomienda no restringir la ingesta de calcio en los sujetos con litiasis renal para evitar las alteraciones metabólicas consecuentes²⁹. Asplin y Tasca no encontraron diferencias en los niveles de 1,25 (OH)₂ vitamina D^{22,27}; aunque en el estudio del primero las ingestas cálcicas eran también similares y superiores a la cantidad mínima requerida (901 mg/día en los pacientes litiásicos y 1.019 mg/día en los controles), mientras que en el de Tasca no se especificó este parámetro.

Aunque los pacientes litiásicos presentaban unos niveles más bajos de PTH —posiblemente relacionado con la elevada 1,25 (OH)₂ vitamina D— estaban

todos dentro del rango de normalidad. En el estudio de Giannini y cols., la PTH prácticamente no muestra diferencias entre ambos grupos, si bien sus pacientes no muestran diferencias en la ingesta cálcica, y la 1,25 (OH)₂ vitamina D no fue medida²⁶. Tasca y cols., obtienen idénticos resultados: tampoco encuentran diferencias significativas entre pacientes con HCA, HCR y controles, pero los valores siguen igual orden en los tres grupos, aunque los niveles de vitamina D que ellos reportan estaban dentro de la normalidad, y los sujetos con dieta hipocálcica fueron excluidos²⁷.

La dieta juega un papel importante en la formación de cálculos renales, y la modificación de la misma puede reducir el riesgo de recurrencia de la formación de nuevos cálculos. La mayoría de los pacientes formadores de cálculos necesitan aumentar la ingesta de líquidos y ser alentados a ingerir una dieta con adecuadas (que no bajas) cantidades de calcio y bajo contenido de proteínas animales y sodio³⁰. En nuestros pacientes litiasicos la baja ingesta de lácteos observada, independientemente del tipo de hipercalcemia, era de esperar, puesto que se trata de una medida hasta ahora frecuentemente utilizada en la prevención de la formación de nuevos cálculos.

Pero a largo plazo, el efecto negativo de una dieta hipocálcica ha sido demostrado. Esta medida conduce a un balance interno de calcio negativo favorecido por otros factores que se relacionan con la litiasis cálcica: hipercalcemia renal, hipofosfatemia y niveles elevados de 1,25 (OH)₂ vitamina D³¹. Asplin y cols. apuntan este hecho como factor de riesgo de baja masa ósea en pacientes litiasicos, puesto que pone en marcha los mecanismos necesarios para evitar hipocalcemia, y que acaban por afectar al hueso²². Fuss y cols. han demostrado en su estudio que los pacientes litiasicos renales que seguían regularmente una ingesta cálcica restringida tenían una menor masa ósea y mayor riesgo de desarrollar osteopenia³². Esta observación fue confirmada por Jaeger y cols., que estudiaron el efecto de diferentes niveles de ingesta de calcio en la dieta sobre la masa ósea en un grupo de pacientes litiasicos³³. Trincheri y cols. hicieron un estudio similar³⁴, en el que la densidad de masa ósea a nivel de la columna lumbar resultó significativamente más baja y los niveles de 1,25 (OH)₂ vitamina D resultaron más elevados en el grupo con una ingesta de calcio inferior, resultados que coinciden con los obtenidos por nosotros.

Los resultados de los estudios sobre la influencia de los polimorfismos del gen VDR en la litiasis renal son diversos, e incluso algunos contradictorios. Es cierto que la mayoría de ellos están realizados con un número muy bajo de sujetos. Nuestro trabajo no muestra resultados concluyentes al respecto. Si bien no hemos encontrado significación estadística evidente, parece que los alelos homocigóticos *BB* y *tt* se presentan con

menor frecuencia entre los pacientes con LRC. Esto pudiera estar en consonancia con el estudio de Masetti y cols., quienes demuestran relación estadística significativa entre el haplotipo *bT* del VDR con la edad temprana de comienzo de la litiasis renal y la mayor incidencia familiar de nefrolitiasis en pacientes con hipercalcemia, así como mayor recurrencia de LRC en los mismos¹⁸. Ozkaya y cols., estudiaron los polimorfismos *a*, *b* y *t* en 64 niños con litiasis hipercalcémica y 90 niños sanos, y encontraron también esta relación entre el genotipo *TT* y la historia familiar y riesgo de recurrencia de litiasis, así como una mayor frecuencia de aparición del genotipo *AA* en los niños litiasicos hipercalcémicos¹⁷. Jackman y cols., también investigaron la asociación con estos mismos factores en un grupo de 19 sujetos hipercalcémicos frente a 37 controles, concluyendo que el genotipo *TT* se asocia de forma estadísticamente significativa con la historia familiar de litiasis, pero no con el riesgo de episodio de litiasis recurrente¹³. Ruggiero y cols., encuentran que los sujetos con el alelo *bb* mostraban una mayor excreción diaria de calcio en la orina, con mayor riesgo de presentar litiasis³⁵, hallazgos encontrados también en otros estudios^{12,36}.

Sin embargo, Nishijima y cols. hallaron una mayor proporción de los genotipos *tt* y *Tt* en los 83 pacientes litiasicos estudiados frente a los 83 sujetos controles, sin encontrar diferencias en el polimorfismo del locus *a*¹⁶. Por otro lado, Söylemezoglu y cols., encontraron una mayor frecuencia del genotipo *AA* en la hipercalcemia absorptiva, frente al grupo formado por los otros dos genotipos (*Aa/aa*), sin hallar asociación con los polimorfismos de los loci *b* y *t*¹⁵. Para aumentar la controversia, el estudio realizado por Heilberg y cols. sugiere que el polimorfismo del *BsmI* no juega un papel importante ni en la pérdida de masa ósea ni en la hipercalcemia de la litiasis renal³⁷.

En conclusión, nuestros resultados sugieren que la litiasis renal cálcica *per se*, independientemente de la presencia o no de hipercalcemia y de sus tipos, afecta negativamente a la DMO, y más específicamente a la del cuello femoral. De manera semejante, existe una secreción elevada de la 1,25 (OH)₂ vitamina D, que a su vez frena la secreción de PTH, cuyas causas nos resultan desconocidas; se podría considerar la posible influencia que la baja ingesta cálcica estuviera ejerciendo, estimulando la producción de 1,25 (OH)₂ vitamina D, si bien es necesario realizar otros estudios orientados en este sentido para poder sacar conclusiones sobre ello. Por último, aunque en nuestro estudio los pacientes litiasicos presentan una distribución de los genotipos estudiados semejante a la de los controles, parece ser que los alelos homocigóticos *BB* y *tt* son menos frecuentes entre los pacientes con litiasis renal cálcica, lo que podría ser más manifiesto cuando ampliemos el tamaño muestral del estudio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Torres A, Suria S, Balaguer G, Concepción M, Martínez M, Lorenzo V: Litiasis renal recidivante: estudio metabólico e incidencia relativa de las distintas formas. *Nefrología* 10: 362-70, 1990.
2. Johnson CM, Wilson DM, O'Fallon WM, Malek RS, Kurland LT: Renal stone epidemiology: a 25 year study in Rochester, Minnesota. *Kidney Int* 16: 624-31, 1979.
3. Sierakowsky R, Finlayson B, Lande, RR: The frequency of urolithiasis on hospital discharge diagnosis in the Unites States. *Invest Urol* 15: 438-41, 1978.
4. Abraham PA, Smith CL: Medical evaluation and management of calcium nephrolithiasis. *Med Clin North Am* 68: 281-99, 1984.
5. Audran M, Erick L: Hypercalciuria. *Joint Bone Spine* 67: 509-15, 2000.
6. Lemann J Jr, Worcester EM, Gray RW: Hipercalciuria and stones. *Am J Kidney Dis* 17: 386-91, 1991.
7. Pacifici R, Rothstein M, Rifas L, Lau KH, Baylink DJ, Avioli LV y cols.: Increased monocyte interleukin-1 activity and decreased vertebral bone density in patients with fasting idiopathic hypercalciuria. *J Clin Endocrinol Metab* 71: 138-45, 1990.
8. Pietschmann F, Breslau NA, Pack CYC: Reduced vertebral bone density in hypercalciuric nephrolithiasis. *J Bone Miner Res* 12: 1383-8, 1992.
9. Borghi L, Meschi T, Guerra A, Maninetti L, Pedrazzoni M, Marcato A y cols.: Vertebral mineral content in diet-dependent hypercalciuria. *J Urol* 146: 1334-8, 1991.
10. Bataille P, Achard JM, Fournier A, Boudailliez B, Westeel PF, Esper N y cols.: Diet Vitamin D and vertebral mineral density in hypercalciuric calcium stone formers. *Kidney Int* 39: 1193-205, 1991.
11. Weisinger JR, Alonzo E, Bellorin-Font E, Blasini AM, Rodríguez MA, Paz-Martínez V y cols.: Possible role of cytokines on the bone mineral loss in idiopathic hypercalciuria. *Kidney Int* 49: 244-50, 1996.
12. Onghiphadhanakul B, Rajatanavin R, Chanprasertyothin S, Chailurkit L, Piaseu N, Teearungsikul K y cols.: Vitamin D receptor gene polymorphisms associated with urinary calcium excretion but not with bone mineral density in postmenopausal women. *J Endocrinol Invest* 20: 592-6, 1997.
13. Jackman SV, Kibel AS, Ovuworie CA, Moore RG, Kavoussi LR, Jarrett TW: Familial calcium stone disease: TaqI polymorphism and the vitamin D receptor. *J Endourol* 4: 313-6, 1999.
14. Rendina D, Mossetti G, Viceconti R, Sorrentino M, Castaldo R, Manno G y cols.: Association between vitamin D receptor gene polymorphisms and fasting idiopathic hypercalciuria un recurrent stone-forming patients. *Urology* 64: 833-8, 2004.
15. Söylemezoglu O, Ozkaya O, Gönen S, Misirhuglu M, Kalman S, Buyan N: Vitamin D receptor gene polymorphism in hypercalciuric children. *Pediatr Nephrol* 19: 724-7, 2004.
16. Nishijima S, Sugaya K, Naito A, Morozumi M, Hatano T, Ogawa Y: Association of vitamin D receptor gene polymorphism with urolithiasis. *J Urol* 167: 2188-91, 2002.
17. Ozkaya O, Söylemezoglu O, Misirhuglu M, Gönen S, Buyan N, Hasanoglu E: Polymorphism in the vitamin D receptor gene and the risk calcium nephrolithiasis in children. *Eur Urol* 44: 150-4, 2003.
18. Mossetti G, Rendina D, Viceconti R, Manno G, Guadagno V, Strazullo P y cols.: The relationship of 3' vitamin D receptor haplotypes to urinary supersaturation of calcium oxalate salts and to age at onset and familial prevalence of nephrolithiasis. *Nephrol Dial Transplant* 19: 2259-65, 2004.
19. Laderdale DS, Thisted RA, Wen M, Favus MJ: Bone mineral density and fracture among prevalent kidney stone cases in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *J Bone Miner Res* 16: 1893-8, 2001.
20. De Tejada Romero M.ª: Tesis Doctoral. Valores de control de Densidad Mineral Ósea en nuestra población mediante QDR.; evaluación de los factores de riesgo de Osteoporosis en mujeres perimenopáusicas. Universidad de Sevilla. 1992.
21. Melton III LJ, Crowson CS, Khosla S, Wilson DM, O'Fallon WM: Fracture risk among patients with urolithiasis: a population-based cohort study. *Kidney Int* 53: 459-64, 1998.
22. Asplin JR, Bauer KA, Kinder J, Muller G, Coe BJ, Parks JH y cols.: Bone mineral density and urine calcium excretion amount subjects with and without nephrolithiasis. *Kidney Int* 63: 662-9, 2003.
23. Tsuji H, Umekawa T, Kurita T, Uemura H, Iguchi M, Kin K y cols.: Analysis of bone mineral density y urolithiasis patients. *Int J Urol* 12: 335-339, 2005.
24. Vezzoli G, Rubinacci A, Bianchin C, Arcidiacono T, Giambona S, Mignogna G y cols.: Intestinal calcium absorption in associated with bone mass in stone-former women with idiopathic hypercalciuria. *Am J Kidney Dis* 42: 1177-83, 2003.
25. Caudarella R, Vescini C, Buffa A, Sinicropi G, Rizzoli E, La Manna G y cols.: Bone mass loss in calcium stone diseases: focus on hypercalciuria and metabolic factors. *J Nephrol* 16: 260-6, 2003.
26. Giannini S, Nobile M, Dalle L, Lodetti MG, Sella S, Vittadello G y cols.: Hypercalciuria is a common and important finding in postmenopausal women with osteoporosis. *Eur J Endocrinol* 149: 209-13, 2003.
27. Tasca A, Cacciola C, Ferrarese P, Ioverno E, Visona E, Bernardi C y cols.: Bone alterations in patients with idiopathic hypercalciuria and calcium nephrolithiasis. *Urology* 59: 865-9, 2002.
28. Deuschmann HA, Weger M, Weger W, Kotanko P, Deuschmann MJ, Skrabal F: Search for occult secondary osteoporosis: impact of identified possible risk factors on bone mineral density. *J Intern Med* 252: 389-97, 2002.
29. Hess B: Low calcium diet in hypercalciuric calcium nephrolithiasis: first do no harm. *Scanning Microsc* 10: 547-54, 1996.
30. Taylor EN, Curhan GC: Diet and fluid prescription in stone disease. *Kidney Int* 70: 835-9, 2006.
31. Trinchieri A: Bone mineral content in calcium renal stone formers. *Urol Res* 33: 247-53, 2005.
32. Fuss M, Pepersack T, Bergman P, Hurard T, Simon J, Corvilain J: Low calcium diet in idiopathic urolithiasis: a risk factor for osteopenia as great as in primary hyperparathyroidism. *Br J Urol* 65: 560-3, 1990.
33. Jaeger P, Lippuner K, Casez JP, Hess B, Ackermann D, Hugh C: Low bone mass in idiopathic renal stone formers: magnitude and significance. *J Bone Miner Res* 10: 1525-32, 1994.
34. Trinchieri A, Nespoli R, Ostini F, Rovera F, Zanetti G, Pisani E: A study of dietary calcium and other nutrients in idiopathic renal calcium stone formers with low bone mineral content. *J Urol* 159: 654-57, 1998.
35. Ruggiero M, Pacini S, Amato M, Aterini S, Chiarugi V: Association between vitamin D receptor gene polymorphism nephrolithiasis. *Miner Electrolite Metab* 25: 185-90, 1999.
36. Relan V, Khullar M, Singh SK, Sharma SK: Association of vitamin D receptor genotypes with calcium excretion in nephrolithiatic subjects in Northern India. *Urol Res* 32: 236-40, 2004.
37. Heilberg IP, Teixeira SH, Martini LA, Boim MA: Vitamin D receptor gene polymorphism and bone mineral density in hypercalciuric calcium-stone-forming patients. *Nephron* 90: 51-7, 2002.