



**VALOR DIAGNÓSTICO DE LA EXCRECIÓN FRACCIONAL DE MINERALES  
PARA EVALUAR EL METABOLISMO DEL CALCIO, MAGNESIO Y FÓSFORO  
EN EL PERRO.**

**DIAGNOSTIC VALUE OF FRACTIONAL EXCRETION OF MINERALS TO  
ASSESS THE METABOLISM OF CALCIUM, MAGNESIUM AND PHOSPHORUS  
IN THE DOG.**

Verónica De Luca Sarobe, Eduardo Alvarez y Angelina Chiappe Barbará  
Cátedra de Fisiología Animal y Bioquímica Fisiológica, Facultad de Ciencias Veterinarias,  
Universidad de Buenos Aires.

Autor para correspondencia: [vdeluca@fvet.uba.ar](mailto:vdeluca@fvet.uba.ar)

**RESUMEN**

Nuestro objetivo fue establecer valores de referencia de la excreción fraccional (EF) de calcio (Ca), fósforo (P) y magnesio (Mg) en perros, proponiendo una metodología para su obtención. Los perros se dividen en grupos SS: con dieta estándar y CS: con dieta estándar más suplemento de calcio durante 10 días. Se observa en CS mayor concentración plasmática de P tanto en ayuno como postprandial respecto a SS. Mayor EFCa en CS respecto a SS en ayuno y postprandial. Menor EF de P y Mg postprandial en SS respecto al ayuno, parámetros que se estabilizan en CS. ( $p < 0.01$ ).

Gracias a la metodología propuesta y al análisis asociado de los minerales se pudo determinar la carencia de calcio en el grupo SS a pesar de tener valores dentro de los bibliográficos de EFCa.

**Palabras clave:** Excreción fraccional, calcio, fósforo, magnesio, perros.

**ABSTRACT**

The aim of this work was to establish reference values of the fractional excretion (FE) of calcium (Ca), phosphorus (P) and magnesium (Mg) in dogs, proposing a methodology for their

obtention. The dogs were divided into groups SS: standard diet and CS: standard diet plus calcium supplement for 10 days. We observed increased plasma concentration of P, both fasting and postprandial, in CS respect to SS. More FECa in CS respect to SS in fasting and postprandial. SS showed a lower FEP and FEMg in fasting than postprandial, parameters that were stabilized in CS. ( $p < 0.01$ ). Thanks to the proposed methodology and the associated analysis of minerals we can see the lack of calcium in SS group despite having EFCa values that are at the bibliography.

**Key words:** Fractional excretion, calcium, phosphorus, magnesium, dogs.

## INTRODUCCIÓN

En el intestino de los mamíferos el calcio y el fósforo son absorbidos por procesos de transporte pasivos y activos. El transporte pasivo es un proceso paracelular no saturable que depende del gradiente de concentración, mientras que el transporte activo es saturable y transcelular activado por la vitamina D3.

Al comienzo de la vida la absorción intestinal de calcio y fósforo es principalmente pasiva y dependiente de la ingesta de los mismos, luego, post destete ésta disminuye proporcionalmente y comienza a ser prominente la absorción activa regulada hormonalmente, siendo la vitamina D3 esencial en dicha regulación (Pansu *et al.*, 1983; Ghishan *et al.*, 1984; Wasserman y Fullmer, 1995). Los perros son buenos modelos experimentales con los cuales estudiar la influencia de la vit D3 sobre el metabolismo del calcio porque son completamente dependientes de la ingesta dietética de la misma debido a una inadecuada síntesis cutánea de vitamina D. (How *et al.*, 1994).

Existe una gran variedad de factores nutricionales, incluyendo la relación Ca/P, la presencia de fitatos y el contenido de grasa que pueden influir en la biodisponibilidad del calcio, así por ejemplo en dietas con exceso en el contenido de calcio la disponibilidad del fósforo se puede ver alterada por la excesiva cantidad de aquel en el tracto gastrointestinal, el cual precipita con el fósforo formando complejos insolubles a  $pH > 6.1$ , como los encontrados en el intestino delgado. (Schaafsma y Visser, 1980; Pastoor *et al.*, 1995; Schoenmakers *et al.*, 1999).

También se ha observado que las dietas iniciales ricas en calcio en las primeras ingestas, cuando aún no se ha destetado al animal, conducen a una disminución en la velocidad de crecimiento, menor ingesta de alimentos y con ello de calcio, y mayor excreción fecal de

calcio. Los caninos de razas grandes son más susceptibles que las razas pequeñas en desarrollar trastornos esqueléticos cuando son criados con dietas deficientes o con excesivo contenido de calcio (Hazewinkel *et al.*, 1991; Nap *et al.*, 1993) Por otro lado se sabe que los fitatos y los oxalatos deben estar en pequeñas cantidades en el alimento ya que interfieren en la biodisponibilidad del calcio (Greger, 1999).

Una de las principales dificultades asociadas con el análisis de la excreción urinaria de calcio es el amplio rango de valores normales establecidos para humanos, perros y ratas (Coe y Bushinsky, 1984; Bushinsky y Favus, 1988; Bushinsky, 1996; Bennett *et al.*, 2006). Dichas variaciones en perros se ve instaurada, en parte, como resultado del uso de dietas comerciales de diferente calidad (Stevenson *et al.*, 2004). Por tal motivo la excreción fraccional es considerada como el mejor marcador para evaluar la excreción renal de electrolitos (Lefebvre *et al.*, 2008).

La excreción fraccional (EF) por el riñón de un constituyente plasmático es la fracción de la cantidad filtrada por el glomérulo que se excreta en la orina. La determinación de la EF prescinde de la recolección de orina de las 24 h ya que sólo es necesaria la toma de muestras simultáneas de sangre y orina. En perros esta alternativa es altamente aplicable en la práctica diaria, pero las condiciones de muestreo deben ser estandarizadas para asegurar una interpretación válida. Luego, una vez detectada la anomalía en la excreción urinaria del electrolito se debe determinar si su origen es idiopático, dietario u hormonal.

La evaluación del manejo renal de los electrolitos junto con el conocimiento de sus concentraciones plasmáticas puede ser de gran utilidad en circunstancias experimentales, clínicas o productivas. Por ello, con el análisis de la excreción fraccional de calcio, fósforo y magnesio en perros se podría analizar por ejemplo el estado de la calciuria postprandial y su relación con la de los minerales fisiológicamente asociados.

Dada la importancia del estudio del metabolismo del calcio (Ca), del fósforo (P) y del magnesio (Mg) en múltiples situaciones fisiológicas y patofisiológicas tales como lactancia, alteración en el crecimiento óseo y litiasis renal entre otras y, considerando la disparidad bibliográfica en los valores del manejo renal de dichos minerales nuestro objetivo fue establecer valores de referencia de la excreción fraccional de calcio, fósforo y magnesio en el perro proponiendo una metodología para su obtención.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Para el estudio se utilizaron 12 perros, machos y hembras, Beagles adultos de  $11.6 \pm 0.9$  Kg de peso corporal alojados en los caniles de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA. El mismo se realizó bajo la supervisión del Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL).

La propuesta metodológica se basa en desafiar al metabolismo mineral del animal con una suplementación conocida de carbonato de calcio y analizar cómo se modifican los parámetros de base.

Durante el periodo de estudio los perros fueron alimentados con 300g/día de alimento balanceado estándar y agua *ad libitum*. El análisis porcentual del alimento dio como resultado: humedad, 7.62%; proteína, 25.21%; extracto etéreo, 11.22%; fibra cruda, 1.55%; almidón, 37.04%; lignina, 6.22%; cenizas, 7.97%; sodio, 0.26%; calcio, 1.86%; fósforo, 0.83% y cloruros, 0.22%. La cantidad absoluta de calcio ingerido por animal fue de 5.6g/día.

Para su estudio los animales fueron divididos en dos grupos:

- SS: grupo control con consumo de alimento estándar (n=6).
- CS: con consumo de alimento estándar y suplemento de calcio (n=6). A este grupo de animales se les suministró desde diez días previos al estudio, 4 g/día de carbonato de calcio provisto en dos dosis diarias de 2 g cada una, diluidas en agua y administradas *per os* previo a la ingesta diaria de alimentos.

El día del estudio se obtuvieron dos muestras de sangre y orina, la primera en ayunas y la segunda 3 hs postprandial. En sangre y orina se determinó creatinina, calcio, fósforo y magnesio. Los electrolitos fueron expresados como excreción fraccional.

El magnesio y el calcio se determinaron mediante espectrofotometría de absorción atómica (Shimadzu AA 646), el fósforo inorgánico mediante método colorimétrico (Baginski *et al.*, 1967) y la creatinina por método enzimático (Heinegard y Tiderström, 1973)

La excreción fraccional (EF) para cada mineral fue calculada mediante la siguiente fórmula:

$$EF = \frac{[x] \text{ urinaria } [Cr] \text{ plasma}}{[x] \text{ plasma } [Cr] \text{ urinaria}} \times 100$$

EF: excreción fraccional, [x]: concentración de calcio, fósforo o magnesio, [Cr]: concentración de creatinina.

Los resultados están expresados como valor medio  $\pm$  error estándar. Para la comparación de medias entre grupos de a dos se utilizó test de Student. Se consideró que existía diferencia significativa entre los grupos confrontados para un nivel de significancia de  $p < 0,05$ . El análisis estadístico de los datos se realizó con el software Instat 3.

## RESULTADOS

En la Tabla 1 se muestran las concentraciones plasmáticas de Ca, P y Mg. En el grupo SS no se observaron diferencias significativas, entre los estados de ayuno y postprandial, en las concentraciones plasmáticas de Ca, P y Mg, en tanto que en los animales que fueron suplementados con carbonato de calcio, CS, se observa un aumento significativo en la concentración plasmática de P tanto en ayuno como postprandial respecto al grupo SS ( $p < 0.01$ ). En la tabla 2 se muestran las excreciones fraccionales de Ca, P y Mg. En el grupo SS podemos observar que la EFCa fue de  $0.33 \pm 0.05$  y de  $0.30 \pm 0.05$  en los períodos de ayuno y postprandial respectivamente. En cuanto a la EFP se advierte que disminuye en el período postprandial respecto al ayuno de  $30.9 \pm 2.7$  a  $3.53 \pm 1.3$  ( $p < 0.01$ ); lo mismo se percibe en la EFMg la cual disminuye de  $3.68 \pm 0.6$  en el ayuno a  $1.23 \pm 0.2$  postprandial,  $p < 0.01$ .

**Tabla 1:** Concentraciones séricas de calcio, fósforo y magnesio en ayuno y postprandial, y con o sin suplementación con calcio.

	calcio (mg/dl)		fósforo (mg/dl)		magnesio (mg/dl)	
	ayuno	postprandial	ayuno	postprandial	ayuno	postprandial
<b>SS</b>	$10.4 \pm 0.16$	$9.9 \pm 0.17$	$2.9 \pm 0.1$	$2.8 \pm 0.09$	$1.9 \pm 0.03$	$1.8 \pm 0.04$
<b>CS</b>	$10.1 \pm 0.30$	$10.7 \pm 0.34$	$4.2 \pm 0.30^*$	$3.7 \pm 0.20^*$	$1.8 \pm 0.05$	$1.8 \pm 0.03$

Valores de referencia en ayuno (mg/dl): calcio  $10.3 \pm 0.5$ ; fósforo  $3.5 \pm 0.8$ ; magnesio  $2.5 \pm 0.2$ . SS, perros alimentados con dieta estándar, n=6. CS, perros alimentados con dieta estándar y con suplementación previa con carbonato de calcio, n=6.

\*SS vs CS, mismo periodo,  $p < 0.01$ . (Student's *t* test)

**Tabla 2:** Excreciones fraccionales de calcio, fósforo y magnesio en ayunas y postprandial, y con o sin suplementación con calcio.

	<b>EFCa</b>		<b>EFP</b>		<b>EFMg</b>	
	ayuno	postprandial	ayuno	postprandial	ayuno	postprandial
<b>SS</b>	0.33 ± 0.05	0.30 ± 0.05	30.9 ± 2.7**	3.53 ± 1.3	3.68 ± 0.6**	1.23 ± 0.2
<b>CS</b>	0.96 ± 0.14*	1.11 ± 0.20*	21.7 ± 2.5*	24.0 ± 6.4*	5.97 ± 0.6*	6.02 ± 0.8*

SS, perros alimentados con dieta estándar, n=6. CS, perros alimentados con dieta estándar y con suplementación previa con carbonato de calcio, n=6. **EFCa**, excreción fraccional de calcio. **EFP**, excreción fraccional de fósforo. **EFMg**, excreción fraccional de magnesio.

\*SS vs CS mismo periodo, p<0.01. \*\*SS ayuno vs SS postprandial, p<0.01. (Student's *t* test)

En el grupo CS, suplementado con carbonato de calcio, no se observan variaciones de la EF de Ca, P y Mg entre la situación de ayuno y postprandial, advirtiéndose la estabilización de dichos parámetros.

Comparando ambos grupos se puede observar que la EFCa del grupo CS es mayor en ambos periodos, ayuno y postprandial, respecto al grupo SS. La EFP es menor en ayuno en CS: 21.7±2.5 vs SS: 30.9±2.7 (p<0.01) y es mayor postprandial, siendo CS: 24±6.4 vs SS: 3.53±1.3 (p<0.01). Respecto a la EFMg se observa un aumento significativo en el grupo CS respecto a SS en ambos periodos, ayuno y postprandial, 5.97±0.6 vs ±0.6 vs 3.68±0.6 y 6.02±0.8 vs 1.23±0.2 respectivamente (p<0.01 ambos).

## DISCUSIÓN

La calcemia, la cual está directamente relacionada con la excreción urinaria del calcio, refleja la homeostasis del mineral. Sin embargo, al igual que otras variables fisiológicas, su nivel permanece constante aún en desbalances metabólicos o en privación de calcio en la dieta por ser el calcio sérico un parámetro fisiológico muy bien regulado (Jahnen-Dechent y Ketteler, 2012). La sola determinación de la calcemia no es suficiente para poder detectar anomalías en el metabolismo del calcio, así por ejemplo, el déficit de calcio en la ingesta generalmente se presenta con valores bajos de fósforo sérico pero con niveles normales de calcio sérico (Pastoor *et al.*, 1994). Dichas alteraciones se verán reflejadas principalmente en la calciuria y en los marcadores de recambio óseo hidroxiprolina, crosslaps del colágeno óseo y piridinolina.

Si bien la excreción urinaria de calcio diaria es aproximadamente un 10% de la ingesta, sus variaciones permiten evaluar el balance neto diario.

La importancia de establecer valores de referencia para la excreción renal de calcio en perros está dada por la relevancia de la misma en el estudio de situaciones fisiológicas o patológicas. Tanto la hipocalciuria como la hipercalciuria son difíciles de categorizar en su origen debido principalmente a la amplia variedad de factores que afectan a la excreción renal de calcio como son: la cantidad consumida de calcio, magnesio, sodio, fósforo o proteínas y el pH. Creemos que un diagnóstico certero de deficiencia o desbalance nutricional de calcio, o hipercalciuria idiopática solo puede ser alcanzado si las concentraciones séricas del calcio son evaluadas junto a las excreciones fraccionales del mismo. Por otra parte, para el análisis de la EFCa no basta con ver los resultados individuales del parámetro sino que se deben ver en conjunto con las excreciones fraccionales de los minerales fisiológicamente asociados, así por ejemplo, una alta EFP y una baja EFMg son factores predisponentes de litiasis renal y generalmente asociadas a un déficit dietario de calcio. (Swaminathan, 2003; Lulich *et al.*, 2010) En este trabajo podemos inferir que, si bien la EFCa en el grupo SS estaba dentro de los valores de referencia establecidos en la bibliografía (Laroute *et al.*, 2005; Bennet *et al.*, 2006; Lefebvre *et al.*, 2008), el aporte de calcio que ofrecía la dieta correspondiente no era suficiente. Esto queda demostrado analizando en conjunto los resultados postprandial de la EFCa, que debería haber aumentado, y con la EFP donde podemos ver la drástica caída de esta última debido a que ocurre una esperada captación ósea de ambos minerales y consecuentemente, la cantidad de fósforo filtrado por los riñones disminuye. Esta situación postprandial no se observa cuando a los animales se los suplementó con carbonato de calcio.

Este hallazgo indica que aunque la dieta consumida presenta una adecuada relación calcio/fósforo de 2.2:1 en el alimento, un valor mayor al recomendado para perros adultos (1.4:1-1.6:1) (Dzanis, 1994; Hodgkinson *et al.*, 2004; NRC, 2006), inferimos que el calcio no estaba presentado de la manera disponible para la absorción intestinal. De esto surge que conocer los minerales presentes en el alimento o la suplementación mineral no es suficiente para evaluar la calidad de la dieta, la falta de coherencia entre el porcentaje de calcio presente en el análisis porcentual del alimento y la absorción neta efectiva producida en el intestino delgado se debe a que el mismo no puede ser absorbido dado el origen de dicho calcio, por ejemplo el presente en los subproductos de la industria avícola (plumas, uñas, picos) o en la bentonita no pueden ser absorbidos por el sistema digestivo del animal, o los fitatos y oxalatos presentes en algunos vegetales se sabe que son quelantes del calcio y por lo tanto disminuyen la absorción intestinal neta del mismo (Siener *et al.*, 2001; Swaminathan, 2003; Lulich *et al.*, 2010)

La suplementación del grupo CS con carbonato de calcio permitió subsanar la deficiencia primaria de calcio observada en el grupo SS e inducir cambios en la excreción fraccional del calcio y de los iones relacionados. Nuestros resultados permiten observar que luego de la suplementación con carbonato de calcio se produce una mayor EFCa, dentro del rango de valores de referencia, la cual es acompañada con una disminución en la EFP durante el ayuno y un aumento en el periodo postprandial no observándose diferencias significativas entre los valores de ambos momentos. Podemos inferir que la disminución de la EFP en el ayuno se debe a la menor resorción ósea y a la probable mayor deposición de fósforo en hueso gracias a la disponibilidad de calcio. En estados equilibrados del metabolismo del calcio los cambios observados en la EFCa postprandial no deberían ser mayores a un 20-25% del valor observado en ayunas, si esto sucede estaríamos frente a una hipercalciuria absortiva idiopática, situación que en humanos se presenta en el 31.2% de los casos de litiasis renal (Coe *et al.*, 1982).

Mediante el uso de la excreción fraccional de minerales en nuestro laboratorio, hemos concluido que el rango de la EFP es amplio, muy variable y dependiente de especie (Perrone *et al.*, 2013) Los valores de referencia utilizados para perros en el presente trabajo están en acuerdo con otros autores (Bennet *et al.*, 2006; Laroute *et al.*, 2005; Lefevbre *et al.*, 2008) ubicando nuestro rango normal de EFP entre 5 y 28.6% en tanto que la EFMg no debe ser menor a 1,5%.

En el grupo SS a pesar de su fosfemia disminuida:  $2.9 \pm 0.1\%$ , se observa un elevado valor en la EFP durante el ayuno:  $30.9 \pm 2.7\%$  situación compatible con déficit dietario de calcio (Lefevre *et al.*, 2008). Dado que una excreción urinaria de fósforo aumentada puede ocurrir en pacientes con hipocalcemia y función renal normal, este hallazgo estaría explicado por la actividad de la PTH asociada a la baja disponibilidad de calcio (Amanzadeh y Reilly, 2006). También se observó en este grupo una caída postprandial en la EFP y en la EFMg (tabla 2). Se sabe que rápidamente, post ingesta de alimentos, se desarrolla un estado de hipercalcemia transitoria y luego este mineral pasará a formar parte de la reserva ósea (Hirsch *et al.*, 2001). Es compatible entonces con el estado de déficit de calcio propuesto para este grupo la caída postprandial en los niveles plasmáticos y urinarios de fósforo y en los niveles urinarios de magnesio, dado que dichos minerales están siendo utilizados ávidamente para la formación ósea junto con el calcio y disminuyendo así los valores en la EFP y en la EFMg.



Consideramos que para alcanzar la homeostasis calcio/fósforo la fosfatemia debería ser de aproximadamente 4 mg/dl y la EFP debería permanecer con valores relativamente constantes entre los períodos de ayuno y postprandial.

La excreción urinaria de fósforo puede aumentar por varios motivos: por incremento de su aporte dietario o bien por déficit en la ingesta de calcio, por mayor actividad paratiroidea o por aumento de la proteína reguladora de la excreción urinaria de fósforo FGF23 (Berndt y Kumar, 2007; Amanzadeh y Reilly, 2006). El análisis de la fosfatemia y de la EFP durante el ayuno en el grupo SS nos lleva a concluir que estos animales estaban hipofosfatémicos, posiblemente por la pérdida crónica de fósforo por orina como resultado de la actividad catabólica ósea de la PTH para mantener la calcemia. Esta alteración es consecuencia del déficit nutricional de calcio que promueve a la alta EFP durante el ayuno:  $30.9 \pm 2.7\%$ , situación que se revierte en el período postprandial posiblemente debido al aumento transitorio del calcio en plasma que conduce a la disminución abrupta de la EFP:  $3.53 \pm 1.3\%$ , fenómeno que también favorece a la retención de magnesio disminuyendo la EFMg de  $3.68 \pm 0.6\%$  durante el ayuno a  $1.23 \pm 0.2\%$  en la etapa postprandial. Luego de la suplementación con carbonato de calcio, la excreción urinaria de fósforo permaneció sin modificaciones entre los períodos de ayuno y postprandial.

El contenido de fósforo es un factor que se debe tener en cuenta a la hora de elaborar alimentos balanceados para perros, un bajo aporte de este mineral producirá un inadecuado producto Ca x P, inhibiendo el almacenamiento de calcio en el tejido óseo (Richardson *et al.*, 2010). Este fenómeno también conducirá a una excesiva excreción urinaria de calcio, independientemente de la calcemia.

Los mecanismos reguladores de la excreción renal de calcio y fósforo han sido revisados por varios autores, sugiriendo que defectos preexistentes en el transporte tubular de estos minerales pueden ser causados por oxalato u otros factores desconocidos, algunos de los cuales presentan una base genética (Huang y Miller, 2007; Berndt y Kumar, 2007; Sayer *et al.*, 2004).

Respecto al Mg, se ha observado que valores altos del mismo en la orina disminuye el riesgo en la formación de cálculos debido a que las sales de oxalato de magnesio son más solubles que las de oxalato de calcio y que entre el 7 y el 11% de los cálculos ocurre con

hipomagnesemia (Kohri *et al.*, 1988; Huang y Miller, 2007; Bradley *et al.*, 2001). Por tales motivos es ventajoso que la EFMg se encuentre por encima de 1.5% (Lulich *et al.*, 1991; Lefevre *et al.*, 2008) Nuestros resultados muestran que el grupo CS presenta una mayor EFMg respecto a SS en ambos períodos, situación deseable en la prevención de urolitiasis por sales de calcio.

## CONCLUSIÓN

Este trabajo intenta poner en relieve la importancia del análisis asociado de las excreciones urinarias de calcio, fósforo y magnesio junto con el contenido sérico de dichos minerales, para ser utilizados como marcadores del metabolismo mineral.

Proponemos como metodología de estudio la realización de un primer muestreo para la determinación de los valores basales en plasma y en la EF de dichos minerales, en ayunas y postprandial; y un segundo muestreo que se realizará también en ayunas y postprandial luego de diez días de suplementación con carbonato de calcio por vía oral.

## BIBLIOGRAFÍA

- Amanzadeh J and Reilly R.** 2006. Hypophosphatemia: an evidenced-based approach to its clinical consequences and management. *Nature Clinical Practice Nephrology*. 2 (3): 136-148.
- Baginski ES, Foa PP, Zak B.** 1967. Microdetermination of inorganic phosphate, phospholipids and total phosphate in biological materials. *Clinical Chemistry*. 13 (4): 326-332.
- Bennett SL, Abraham LA, Anderson GA, Holloway SA, Parry BW.** 2006. Reference limits for urinary fractional excretion of electrolytes in adult non-racing Greyhound dogs. *Aust Vet J*. 84 (11): 393-397.
- Berndt T, Kumar R.** 2007. Phosphatonins and the regulation of phosphate homeostasis. *Annual Review of Physiology*. 69: 341-359.
- Bradley F, Schwartz J, Stephen L, Marshall L.** 2001. Rethinking the role of urinary magnesium in calcium urolithiasis *Endourology*. 15: 233-235.
- Bushinsky DA.** 1996. Genetic hypercalciuric stone forming rats. *Semin Nephrol*. 16: 448-457.
- Bushinsky DA, Favus MJ.** 1988. Mechanism of hypercalciuria in genetic hypercalciuric rats: inherited defect in intestinal calcium transport. *J Clin Invest*. 82: 1585-1591.
- Coe FL, Bushinsky DA.** 1984. Pathophysiology of hypercalciuria. *Am J Physiol Renal Fluid Electrolyte Physiol*. 247: F1-F13.

- Coe FL, Favus MJ, Crockett T, Strauss AL, Parks JH, Porat A, Gantt CL, Sherwood LM.** 1982. Effects of low-calcium diet on urine calcium excretion, parathyroid function and serum 1, 25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> levels in patients with idiopathic hypercalciuria and in normal subjects. *American Journal of Medicine.* 72: 25–32.
- De Luca Sarobe V, Di Ciano L, Tula C, Alvarez E, Chiappe A.** 2010. Análisis de las excreciones urinarias de calcio, fósforo y magnesio en el perro. In: X Congreso Nacional de AVEACA, Buenos Aires, *Actas X Congreso Nacional de AVEACA.*
- Dzanic D.** 1994. The association of American feed control officials dog and cat food nutrient profiles: substantiation of nutritional adequacy of complete and balanced pet foods in the United States. *J. Nutr. S:* 2535-2539.
- Finco DR.** 1995. Evaluation of renal functions. In: Osborne CA, Finco DR, eds. *Canine and Feline Nephrology and Urology.* Baltimore, MD: Williams & Wilkins: 216–229.
- Ghishan F K, Parker P, Nichols S, Hoyumpa A.** 1984. Kinetics of intestinal calcium transport during maturation in rats. *Pediatr. Res.* 18: 235– 239.
- Greger JL.** 1999. Nondigestible Carbohydrates and Mineral Bioavailability. *J. Nutr.* 129: 1434S–1435S,
- Hazewinkel HAW, van den Brom WE, van't Klooster ATH, VoorhoutĀ G, van WEES A.** 1991. Calcium Metabolism in Great Dane Dogs Fed Diets with Various Calcium and Phosphorus Levels. *J. Nutr.* 121: S99-S106,
- Heinegard D, Tiderström G.** 1973. Determination of serum creatinine by a direct colorimetric method. *Clinica Chimica Acta.* 43: 305-310.
- Hirsch PF, Lester GE, Talmage RV.** 2001. Calcitonin, an enigmatic hormone: does it have a function? *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 1(4):299-305.
- Hodgkinson SM, Rosales CE, Alomar D, Boroschek D.** 2004. Evaluación químico-nutricional de alimentos secos comerciales en Chile para perros adultos en mantención. *Archivos de medicina veterinaria* 36: 173-181.
- How K L, Hazewinkel HAW, Mol JA.** 1994. Dietary vitamin D dependence of cat and dog due to inadequate cutaneous synthesis of vitamin D. *Gen. Comp. Endocrinol.* 96: 12–18.
- Huang C, Miller, R.T.** 2007. Regulation of renal ion transport by the calcium-sensing receptor: an update. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension.* 16: 437–443.
- Jahnen-Dechent W, Ketteler M.** 2012. Magnesium basics. *Clinical Kidney Journal.* 5 (suppl 1), p. 3-14.
- Kohri K, Garside J, Blacklock NJ.** 1988. The role of magnesium in calcium oxalate urolithiasis. *British Journal of Urology.* 61: 107-115.

- Laroute V, Chetboul V, Roche L, Maurey C, Costes G, Pouchelon JL, De La Farge F, Boussouf M, Lefebvre HP.** 2005. Quantitative evaluation of renal function in healthy Beagle puppies and mature dogs. *Research in Veterinary Science.* 79: 161–167.
- Lefebvre H, Dossin O, Trumel C, Braun J.** 2008. Fractional excretion tests: a critical review of methods and applications in domestic animals. *Veterinary Clinical Pathology.* 37 (1): 4-20.
- Lulich JP, Osborne CA, Polzin DJ, Johnston SD, Parker ML.** 1991. Urine metabolite values in fed and nonfed clinically normal Beagles. *Am J Vet Res.* 52: 1573–1578
- Lulich JP, Osborne CA, Koehler LA.** 2010. Chapter 40: Canine Calcium Oxalate Urolithiasis: Changing Paradigms in Detection, Management and Prevention. In: *Small Animal Clinical Nutrition*, 5th edition. Ed: Hand, Thatcher, Remillard, Roudebush, Novotny. Mark Morris Institute, Topeka, KS. 855-880.
- Nap RC, Hazewinkel H, Van den Brom W.** 1993. <sup>45</sup>Ca kinetics in growing miniature poodles challenged by four different dietary levels of calcium. *J Nutr.* 123(11): 1826-33.
- Pansu D, Bellaton C, Bronner F.** 1983. Developmental changes in the mechanisms of duodenal calcium transport in the rat. *Am. J. Physiol.* 244: G20–G26.
- Pastoor FJH, van't Klooster A Th, Mathot JNJJ, Beynen AC.** 1995. Increasing phosphorus intake reduces urinary concentrations of magnesium and calcium in adult ovariectomized cats fed purified diets. *J. Nutr.* 125: 1334–1341.
- Pastoor FJH, van't Klooster A Th, Mathot JNJJ, Beynen AC.** 1994. Increasing calcium intakes lower urinary concentrations of phosphorus and magnesium in adult ovariectomized cats. *J. Nutr.* 124: 299– 304.
- Perrone G, Pérez A, Caviglia J, Chiappe Barbará, A.** 2013. Effects of Live Yeast (*Saccharomyces cerevisiae* Strain 1026) supplementation on the closure of articular growth plates in quarter horse foals. *Journal of Equine Veterinary Science.* 33: 261-265,
- Richardson D, Nap R, Zentek J, Toll P, Hazewinkel H, Zicker S.** 2010. Chapter 33: Developmental orthopedic disease of dogs. In: *Small Animal Clinical Nutrition*, 5th edition. Ed: Hand, Thatcher, Remillard, Roudebush, Novotny. Mark Morris Institute, Topeka, KS. 667-693.
- Sayer JA, Carr G, Simmons L.** 2004. Nephrocalcinosis: molecular insights into calcium precipitation within the kidney. *Clinical Science.* 106: 549-561.
- Schaafsma G, Visser R.** 1980. Nutritional interrelationships between calcium, phosphorus and lactose in rats. *J. Nutr.* 110: 1101–1111.

**Schoenmakers I, Hazewinkel HA, van den Brom WE.** 1999. Excessive Ca and P intake during early maturation in dogs alters Ca and P balance without long-term effects after dietary normalization. *J. Nutr.* 129: 1068– 1074.

**Siener R, Heynck H, Hesse A.** 2001. Calcium-binding capacities of different brans under simulated gastrointestinal pH conditions. In vitro study with <sup>45</sup>Ca. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 49: 4397-4401.

**Stevenson AE, Blackburn JM, Markwell PJ, Robertson WG.** 2004. Nutrient intake and urine composition in calcium oxalate stone-forming dogs: comparison with healthy dogs and impact of dietary modification. *Vet Ther.* 5(3): 218-31.

**Swaminathan R.** 2003. Magnesium metabolism and its disorders. *The Clinical Biochemist Reviews.* 24: 47-66.

**Wasserman RH, Fullmer CS.** 1995. Vitamin D and intestinal calcium transport: facts, speculations and hypotheses. *J. Nutr.* 125: 1971S– 1979S.