

Valores de referencia de los principales parámetros sanguíneos relacionados con el metabolismo fosfocálcico en gatos.

Reference values of the main parameters related to mineral metabolism in cat.

Carmen Pineda¹ MV MSc, Escolástico Aguilera-Tejero² DMV Dip ECEIM, Ignacio López³ DMV.

Recibido : 16 Diciembre 2013

Aceptado : 15 Enero 2014

Resumen

Con el fin de obtener valores de referencia que ayuden al diagnóstico de procesos patológicos relacionados con alteraciones del metabolismo mineral, se han estudiado los principales indicadores del metabolismo fosfocálcico en 52 muestras sanguíneas de gatos adultos clínicamente sanos. Se han cuantificado las concentraciones plasmáticas de hormona paratiroidea, metabolitos de la vitamina D (calcitriol y calcidiol) y calcitonina. También se han medido: calcio iónico y total, fósforo y magnesio. Los resultados obtenidos aportan valores de referencia (expresados como valores medio y rangos) de una serie de parámetros de gran utilidad para el diagnóstico de enfermedades que afectan al metabolismo mineral y sobre los cuales existe escasa información en la clínica felina. Del mismo modo, se discute la interpretación de las alteraciones de estos parámetros y se proporciona información sobre las técnicas disponibles y más recomendables para su cuantificación.

Palabras clave: gato, hormona paratiroidea, calcitriol, calcidiol, calcitonina, calcio, fósforo, magnesio.

Abstract

In order to obtain reference values for the diagnosis of pathological conditions associated with mineral metabolism disturbances, we have studied the main parameters of mineral metabolism in 52 blood samples from clinically healthy adult cats. Plasma concentrations of parathyroid hormone, vitamin D metabolites (calcitriol and calcidiol), calcitonin, ionized and total calcium, phosphorus and magnesium were quantified. Our results provide reference values (expressed as mean values and ranges) of a number of useful parameters for the diagnosis of diseases related to mineral metabolism for which there is a paucity of information in feline medicine. The interpretation of the changes that these parameters may have in different diseases is discussed. In addition, information about available measurement techniques is provided.

Keywords: cat, parathyroid hormone, calcitriol, calcidiol, calcitonin, calcium, phosphorus, magnesium.

¹Doctoranda del Departamento de Medicina y Cirugía Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba. Córdoba, España.

²Catedrático del Departamento de Medicina y Cirugía Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba. Córdoba, España.

³Profesor Titular del Departamento de Medicina y Cirugía Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba. Campus Universitario Rabanales. Ctra. Madrid-Cádiz, km 396. 14014 Córdoba, España. ignacio.lopez@uco.es

Introducción

Los mamíferos han desarrollado un complejo sistema para el mantenimiento de la homeostasis extracelular del calcio y del fósforo a través de hormonas que determinan cambios en la conducción de estos minerales a nivel gastrointestinal, renal y esquelético. La regulación de la homeostasis fosfocálcica es compleja y requiere de la acción integrada de la hormona paratiroidea (PTH), metabolitos de la vitamina D y, en menor grado, de la calcitonina.^{1,2}

La PTH es la principal hormona implicada en la regulación minuto-a-minuto de la concentración sanguínea de calcio. Ejerce sus acciones biológicas principalmente en hueso y riñón, e indirectamente en el intestino. Entre sus efectos biológicos se incluye el incremento de la concentración de calcio en sangre, de la reabsorción tubular de calcio y de la resorción ósea, así como el favorecer la formación de calcitriol en el riñón.^{1,2}

El calcitriol es la única forma natural de la vitamina D con actividad biológica significativa. Incrementa la concentración de calcio y fósforo sérico y su principal órgano diana para realizar esta acción es el intestino, aunque existe también una importante contribución del hueso. Por su parte, el calcidiol, el cual se produce en el hígado, es predominantemente la forma circulante de la vitamina D.^{1,2}

La calcitonina se secreta en respuesta a hipercalcemia, pero sus efectos en la homeostasis del calcio se consideran menores. Su función más destacada es la de limitar el grado de hipercalcemia postprandial. El principal órgano diana donde actúa es el hueso, inhibiendo la resorción ósea osteoclástica.^{1,2}

Las alteraciones del metabolismo fosfocálcico poseen una gran relevancia en los animales domésticos, fundamentalmente durante la etapa de crecimiento³⁻⁵ y en estadios seniles.⁶ Sin embargo, en la práctica clínica de pequeños animales se dispone de muy poca información acerca de los principales parámetros que permiten evaluar la homeostasis del calcio y del fósforo.

El propósito del presente trabajo se centra en el estudio de las concentraciones de los principales parámetros que influyen en el metabolismo mineral felino a fin de establecer rangos de referencia para su uso clínico con fines diagnósticos.

Materiales y método - Animales

Se ha estudiado un total de 52 muestras sanguíneas de gatos de raza común europeo

(domésticos de pelo corto). Se realizó un examen físico y un análisis de sangre completo (hemograma y perfil bioquímico) para confirmar que todos los animales en estudio estaban sanos. Todos los procedimientos experimentales han sido aprobados por el Comité Ético de la Universidad de Córdoba.

Diseño experimental

Los animales fueron alimentados con una dieta estándar comercial para gatos adultos con el siguiente contenido: calcio (1,1%), fósforo (1%) y vitamina D (1500 UI/kg).

Con el fin de evitar posibles influencias del ritmo circadiano sobre alguno de los parámetros objeto de estudio, la recogida de las muestras se estandarizó de manera que todas las tomas se realizaran aproximadamente a la misma hora y luego de ayuno. Se obtuvo una muestra de sangre venosa por punción de la vena yugular, utilizando una jeringa de 10 ml (heparinizada) y una aguja de 23 G. La toma de sangre se llevó a cabo en condiciones de anaerobiosis, para evitar modificaciones en el pH sanguíneo que pudieran interferir con la posterior medición de calcio iónico. Igualmente, las muestras se conservaron en frío hasta su posterior medición no sobrepasando el tiempo de espera en más de una hora.

Métodos analíticos

El calcio iónico se midió inmediatamente tras la recolección de las muestras mediante electrodo selectivo (Bayer Diagnostics, Barcelona, España).

Posteriormente, las muestras de sangre se centrifugaron a 3500 r.p.m. durante 10 minutos para separar el plasma, el cual se dividió en varias alícuotas y se almacenó a -20°C para la posterior medición del resto de los parámetros.

El calcio total, fósforo y magnesio se cuantificaron mediante espectrofotometría automatizada convencional (BioSystems, SA, Barcelona, España).

La PTH se midió usando un inmunoradiensayo (IRMA) (Duo PTH IRMA Kit-coated bead, part number 3KG601, Scantibodies Laboratory Inc., Santee, CA, USA). Este kit está diseñado para la determinación cuantitativa de PTH completa (W-PTH) y PTH intacta (I-PTH), y ha sido validado recientemente por nuestro laboratorio para cuantificar esta hormona en la especie felina: sensibilidad (I-PTH, 2 pg/ml; W-PTH, 3 pg/ml), variación intraensayo (muestras con concentración normal de PTH: I-PTH, 9,5%; W-PTH, 11,4%; muestras con alta concentración de PTH: 5,2%

y 6,5% para I-PTH y W-PTH, respectivamente) y reproducibilidad interensayo (muestras con concentración normal de PTH: I-PTH, 9,8%; W-PTH, 13,1%; muestras con alta concentración de PTH: 11,1% y 13,4% para I-PTH y W-PTH, respectivamente).⁷

El calcitriol y calcidiol se determinaron en muestras de plasma usando un radioinmunoensayo (1,25-Dihydroxy Vitamin D RIA-ref. AA54F2, Immunodiagnostic Systems Ltd., Boldon, UK; 25-hydroxy Vitamin D RIA-ref. AA-35F1, Immunodiagnostic Systems Ltd., Boldon, UK). Ambos kits están diseñados para la extracción y cuantificación de calcitriol y calcidiol respectivamente, siendo recientemente validados por nuestro laboratorio para la determinación de muestras de gato. La variación intra e interensayo para estos ensayos fue: calcitriol, 9% y 12% respectivamente; y calcidiol, 6% y 8% respectivamente. La sensibilidad del ensayo fue <3pg/ml para el calcitriol y <2pg/ml para el calcidiol. Ambos ensayos mostraron linealidad durante la dilución de muestras de plasma felino y los porcentajes de recuperación fueron del 90 ± 6 % (calcitriol) y del 107 ± 3 % (calcidiol).³

Para la medición de calcitonina se empleó un IRMA (Calcitonin IRMA-coated tube, part number 3KG556, Scantibodies Laboratory Inc., Santee, CA, USA) el cual utiliza dos anticuerpos policlonales que capturan a la molécula de calcitonina para formar un complejo "sandwich". Este ensayo ha sido validado recientemente por nuestro laboratorio para la medición de calcitonina en muestras felinas. El coeficiente de variación intraensayo para muestras de gatos normocalcémicos fue de 12,8% y de 4,5% para muestras de gatos hipercalcémicos. La

variación interensayo osciló desde 18,6 a 13,3%. El límite de detección para este ensayo es de 0,9 pg/ml.⁸

Análisis estadístico

Se obtuvieron los estadísticos descriptivos para cada grupo de parámetros estudiados. Todos los procedimientos estadísticos se realizaron con el programa estadístico SPSS 15.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Los valores se expresan como la media ± error estándar (ES).

Resultados

En la tabla 1 aparecen reflejadas las concentraciones plasmáticas de los principales indicadores del metabolismo mineral en gatos adultos sanos estudiados en este trabajo.

La concentración media de calcio iónico obtenida en este estudio arroja valores de 1,24 ± 0,01 mmol/l, con un rango comprendido entre 1,17 y 1,34 mmol/l. Los niveles medios obtenidos para el calcio total son de 8,6 ± 0,3 mg/dl.

Las concentraciones de fósforo y magnesio son de 5,3 ± 0,1 mg/dl y 2,7 ± 0,1 mg/dl, respectivamente.

Los valores de I-PTH encontrados en este estudio muestran un valor medio de 9,1 ± 0,7 pg/ml, con un rango que oscila entre 1,6 - 23,7 pg/ml. Por otro lado, el valor medio de W-PTH es de 15,1 ± 1,6 pg/ml, con un rango comprendido entre 1,4 - 51,5 pg/ml.

Al estudiar la concentración sanguínea de

Tabla 1. Concentraciones plasmáticas de los principales indicadores del metabolismo mineral en un grupo de gatos adultos sanos.

Parámetros	Rango	Media ± ES
Calcio iónico (mmol/l)	1,17 - 1,34	1,24 ± 0,01
Calcio total (mg/dl)	7,1 - 9,9	8,6 ± 0,3
Fósforo (mg/dl)	4,4 - 6,2	5,3 ± 0,1
Magnesio (mg/dl)	2,2 - 3,8	2,7 ± 0,1
I-PTH (pg/ml)	1,6 - 23,7	9,1 ± 0,7
W-PTH (pg/ml)	1,4 - 51,5	15,1 ± 1,6
Calcitriol (pg/ml)	9,3 - 170,6	103,2 ± 11,5
Calcidiol (ng/ml)	24,7 - 153,1	80,5 ± 10,6
Calcitonina (pg/ml)	0,9 - 3,2	1,3 ± 0,3

I-PTH = hormona paratiroidea intacta; W-PTH = hormona paratiroidea completa.

calcitriol se aprecia una mayor variabilidad, con un rango que fluctúa entre 9,3 y 170,61 pg/ml, siendo la concentración media igual a $103,2 \pm 11,5$ pg/ml. El calcidiol evidencia un valor medio igual a $80,5 \pm 10,6$ ng/ml, mostrando un rango comprendido entre 24,7 – 153,1 ng/ml.

Por último, se obtuvo una concentración media de calcitonina igual a $1,3 \pm 0,3$ pg/ml, con un rango comprendido entre 0,9 y 3,2 pg/ml, siendo este valor de 0,9 el límite inferior de detección del ensayo.

Discusión

El propósito de este trabajo es evaluar los principales parámetros que intervienen en el metabolismo mineral en gatos, para obtener valores de referencia útiles y fiables para la clínica diaria. Para dicho fin, se han estudiado las concentraciones sanguíneas de los principales electrolitos y hormonas implicados en el metabolismo fosfocálcico en un grupo de gatos adultos clínicamente sanos.

Las referencias bibliográficas encontradas para el calcio iónico establecen rangos de normalidad muy amplios para gatos adultos,⁹ dentro de los cuales se encontrarían nuestros valores. En relación al calcio total, los rangos establecidos son igualmente amplios, estando la concentración de este electrolito en gatos alrededor de 9 mg/dl. A pesar del hecho de que sólo la fracción de calcio iónico es biológicamente activa, el calcio de los animales por lo general se evalúa inicialmente midiendo la concentración de calcio total. La medición de la concentración de calcio total es más fácilmente disponible que la de calcio iónico, pero no siempre refleja de manera precisa la concentración de calcio del paciente. Puede existir variabilidad por diferencia de edad, dieta, duración del ayuno antes de tomar la muestra y momento del muestreo.¹⁰ Además de estas variaciones fisiológicas, existen numerosos procesos patológicos asociados a hipo- e hipercalcemia en gatos. En la última década se ha observado un incremento de gatos que presentan hipercalcemia idiopática caracterizada por un aumento en los niveles de calcio iónico junto con concentraciones normales o descendidas de PTH, calcitriol, calcidiol y fósforo.¹¹

La concentración media de fósforo determinada en nuestro estudio, $5,3 \pm 0,1$ mg/dl, se encuentra dentro del rango normal establecido por otros autores para gatos adultos.^{4,5,12} En los animales domésticos se ha observado que el descenso en la capacidad funcional del riñón conduce a una retención de fósforo progresiva, siendo éste uno de los hallazgos más precoces en el diagnóstico de enfermedad renal.¹³ Las alteraciones del metabolismo fosfocálcico que acompañan a la

enfermedad renal se caracterizan por la presencia de hipocalcemia e hiperfosfatemia, por ello es muy interesante conocer los niveles de estos iones ante la sospecha de una alteración renal.

En relación al magnesio, los niveles del presente estudio se encuentran dentro de los rangos publicados en la bibliografía ($1,5$ a 5 mg/dl).^{5,10} La determinación de magnesio resulta imprescindible ante pacientes en cuidados intensivos con hipo- e hipermagnesemia, debida ésta última fundamentalmente a enfermedad renal crónica o hipocalcemia. Igualmente, la concentración de magnesio en la dieta juega un papel importante en el desarrollo de urolitiasis por estruvita en el gato.¹⁰

Con respecto al calcio (total e iónico), fósforo y magnesio, se ha demostrado un efecto relacionado con la edad en gatos, encontrando en gatos jóvenes (menores de un año) niveles superiores a los de animales adultos.³

En nuestro estudio, el ensayo para I-PTH evidencia valores similares ($9,1 \pm 0,7$ pg/ml) a lo que previamente reportaron Barber y colaboradores¹⁴ usando otro ensayo, no disponible comercialmente en la actualidad, validado para esta especie ($10,9 \pm 5,3$ pg/ml). Los valores cuantificados de W-PTH ($15,1 \pm 1,6$ pg/ml) son superiores en comparación con los niveles de I-PTH ($9,1 \pm 0,7$ pg/ml). Este hallazgo es inusual ya que el ensayo de I-PTH mide todo el péptido W-PTH (PTH 1-84) más un número de fragmentos N-terminales (PTH 7-84), sin embargo, en nuestro laboratorio encontramos el mismo fenómeno en estudios previos de PTH equina.¹⁵ Esto podría explicarse por una posible diferencia de afinidad del anticuerpo trazador frente a la PTH felina, dado que el trazador empleado contra la región (PTH 7-34) usado en el ensayo de I-PTH, podría tener una baja afinidad por la molécula de PTH felina en comparación con el anticuerpo trazador para la región (PTH 1-4) usado en el ensayo de W-PTH. Por tanto, la cuantificación de la concentración de I-PTH sería más baja en relación a la de W-PTH. Esta hipótesis se asienta en el hecho de que la parte de la molécula de PTH que muestra menor variación entre especies es la porción amino-terminal. Además, la PTH felina se ha reportado similar a la PTH humana en dicha porción.¹⁶

El conocimiento de los niveles plasmáticos de PTH permite diagnosticar afecciones primarias de las glándulas paratiroides: hipo- e hiperparatiroidismo, así como otras alteraciones metabólicas. Además, en el desarrollo de la enfermedad renal, también se produce elevación de los niveles de PTH como respuesta a la retención de fósforo y a la disminución de la concentración

de calcio, estableciéndose lo que se conoce como hiperparatiroidismo renal secundario.¹⁷ Por ello, junto con las pruebas de función renal, la medición de los niveles plasmáticos de esta hormona puede ser de gran utilidad para el diagnóstico de fallo renal en sus fases iniciales.¹⁸ También, es interesante determinar la concentración de PTH cuando se sospecha de la existencia de una alteración del metabolismo mineral de origen nutricional. Esto es particularmente relevante en cachorros y gatitos, donde pueden presentarse afecciones óseas como consecuencia de un desequilibrio del calcio y del fósforo en la dieta, que origina un hiperparatiroidismo nutricional secundario.¹⁹ En este sentido, nuestro grupo ha publicado recientemente valores de referencia de esta hormona en gatos menores de un año siendo muy similares a los que ofrecen los animales adultos.³ Igualmente, se ha demostrado que gatos hipertiroideos con frecuencia evidencian un aumento de las concentraciones de PTH y fósforo, así como niveles reducidos de calcio iónico.²⁰⁻²²

En el caso del calcitriol y calcidiol, es difícil encontrar en la bibliografía valores de referencia en gatos; además, con frecuencia éstos son realmente amplios. Los valores de calcitriol obtenidos en nuestro estudio se encuentran dentro de los rangos de referencia publicados para gatos por Tomsa y colaboradores.¹⁹ En el caso del calcidiol, nuestros valores concuerdan con los publicados por Morris y colaboradores.²³

El calcidiol es el metabolito precursor e indicador del aporte nutricional de vitamina D. El rango de referencia para la concentración de calcidiol se sitúa entre 25 – 35 ng/mL en humanos, siendo el límite superior del intervalo de referencia en perros y gatos considerablemente más alto, probablemente debido al consumo diario de preparados comerciales suplementados con vitamina D.²⁴

La cuantificación de los metabolitos de la vitamina D resulta imprescindible en los casos, en los cuales se sospecha una alteración en el metabolismo mineral, sobre todo en pacientes con afecciones óseas. En la bibliografía se han descrito procesos de raquitismo en cachorros donde de la base del diagnóstico se centra en la medición de dichos metabolitos.²⁵⁻²⁷ Por ello, cobra gran interés disponer de unos valores de referencia fiables para estos parámetros en gatitos jóvenes. En este sentido, nuestro laboratorio ha reportado recientemente concentraciones mayores de calcitriol y menores de calcidiol en gatos de 3 meses con respecto a gatos adultos.³ También es interesante destacar la importancia de los metabolitos de la vitamina D en animales con enfermedad renal, ya que

varios estudios han observado un descenso en ambos metabolitos en pacientes con enfermedad renal crónica.²⁴ Además, Barber y colaboradores¹⁷ observaron un descenso progresivo en los niveles de calcitriol relacionado con un incremento en la severidad de la azotemia, alcanzando significación estadística en gatos urémicos (creatinina media de 4,1 mg/dl) y en gatos en estadio final de la enfermedad (creatinina media de 11.9 mg/dl). Por otra parte, la medición de esta hormona resulta de gran interés en gatos hipertiroideos, ya que se ha observado un incremento en los niveles plasmáticos de calcitriol en los gatos con dicha patología.²²

Con respecto a la calcitonina, las publicaciones referentes a valores de referencia en animales domésticos son escasas y apenas existen publicaciones referentes a niveles plasmáticos de calcitonina en gatos adultos.⁸ En este trabajo, se ha estimado un rango de 0,9 – 3,2 pg/ml. Publicaciones en otras especies demuestran que no es extraño encontrar valores de calcitonina tan bajos; de hecho, pacientes humanos clínicamente sanos podrían tener concentraciones basales de calcitonina similares a las reportadas.²⁸ En aquellos casos de hipercalcemia idiopática felina, sería de gran importancia la determinación de calcitonina. Aunque esta hormona presenta un papel secundario en el metabolismo del calcio, quizás la determinación de esta hormona podría ayudar a elucidar por qué algunos gatos son susceptibles a manifestar esta patología y otros no.

En conclusión, el estudio de los niveles plasmáticos de las principales hormonas y electrolitos implicados en el metabolismo fosfocálcico resulta imprescindible para establecer el diagnóstico de procesos patológicos que cursan con alteraciones del metabolismo mineral, incluyendo afecciones óseas, renales, nutricionales y neoplásicas. Igualmente, destacamos la importancia de emplear rangos de referencia adecuados para cada edad. Con este trabajo se aportan valores de referencia sobre los niveles plasmáticos normales de estos parámetros en gatos clínicamente sanos, además de dar a conocer las técnicas más útiles para su estudio.

Referencias bibliográficas

1. Schoenmakers I, Nap RC, Mol JA, et al. Calcium metabolism: an overview of its hormonal regulation and interrelation with skeletal integrity. *Vet Q* 1999; 21: 147-153.
2. Mundy GR, Guise TA. Hormonal control of calcium homeostasis. *Clin Chem* 1999; 45: 1347-1352.
3. Pineda C, Aguilera-Tejero E, Guerrero F, et al. Mineral

- metabolism in growing cats: changes in the values of blood parameters with age. *J Feline Med Surg* 2013; 15: 866-871.
4. Levy JK, Crawford PC, Werner LL. Effect of age on reference intervals of serum biochemical values in kittens. *J Am Vet Med Assoc* 2006; 228: 1033-1037.
 5. Kraft W, Hartmann K, Dereser R. Age dependency of laboratory values in dogs and cats. Part II: Serum electrolytes. *Tierarztl Prax* 1996; 24: 169-173 [in German].
 6. Aguilera-Tejero E, Lopez I, Estepa JC, et al. Mineral metabolism in healthy geriatric dogs. *Res Vet Sci* 1998; 64: 191-194.
 7. Pineda C, Aguilera-Tejero E, Raya AI, et al. Feline parathyroid hormone: validation of hormonal assays and dynamics of secretion. *Domest Anim Endocrinol* 2012; 42: 256-264.
 8. Pineda C, Aguilera-Tejero E, Raya AI, et al. Assessment of calcitonin response to experimentally induced hypercalcemia in cats. *Am J Vet Res* 2013; 74: 1514-1521.
 9. Schenck PA, Chew DJ, Nagode LA, et al. Alteraciones del calcio: hipercalcemia e hipocalcemia. En: DiBartola SP. *Fluidoterapia, electrolitos y desequilibrios ácido-base en pequeños animales 3ª edición*. Multiméica Ediciones Veterinarias. Barcelona (España); 2007.
 10. Rosol TJ, Capen CC. Pathophysiology of calcium, phosphorus, and magnesium metabolism in animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1996; 26: 1155-1184.
 11. Midkiff AM, Chew DJ, Randolph JF, et al. Idiopathic hypercalcemia in cats. *J Vet Intern Med* 2000; 14: 619-626.
 12. Reynolds BS, Boudet KG, Germain CA, et al. Determination of reference intervals for plasma biochemical values in clinically normal adult domestic shorthair cats by use of a dry-slide biochemical analyzer. *Am J Vet Res* 2008; 69: 471-477.
 13. Geddes RF, Finch NC, Syme HM, et al. The role of phosphorus in the pathophysiology of chronic kidney disease. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)* 2013; 23: 122-133.
 14. Barber PJ, Elliott J, Torrance AG. Measurement of feline intact parathyroid hormone: assay validation and sample handling studies. *J Small Anim Pract* 1993; 34: 614-620.
 15. Estepa JC, Garfia B, Gao P, et al. Validation and clinical

- utility of a novel immunoradiometric assay, exclusively for biologically active whole parathyroid hormone in the horse. *Equine Vet J* 2003; 35: 291-295.
16. Toribio RE, Kohn CW, Chew DJ, Capen CC, Rosol TJ. Cloning and sequence analysis of the complementary DNA for feline preproparathyroid hormone. *Am J Vet Res* 2002; 63: 194-197.
 17. Barber PJ, Elliott J. Feline chronic renal failure: calcium homeostasis in 80 cases diagnosed between 1992 and 1995. *J Small Anim Pract* 1998; 39: 108-116.
 18. Finch NC, Syme HM, Elliott J. Parathyroid hormone concentration in geriatric cats with various degrees of renal function. *J Am Vet Med Assoc* 2012; 241: 1326-1335.
 19. Tomsa K, Glaus T, Hauser B, et al. Nutritional secondary hyperparathyroidism in six cats. *J Small Anim Pract* 1999; 40: 533-539.
 20. Barber PJ, Elliott J. Study of calcium homeostasis in feline hyperthyroidism. *J Small Anim Pract* 1996; 37: 575-582.
 21. Williams TL, Elliott J, Syme H. Calcium and phosphate homeostasis in hyperthyroid cats: associations with development of azotaemia and survival time. *J Small Anim Pract* 2012; 53: 561-571.
 22. Williams TL, Elliott J, Berry J, et al. Investigation of the pathophysiological mechanism for altered calcium homeostasis in hyperthyroid cats. *J Small Anim Pract* 2013; 54: 367-373.
 23. Morris JG, Earle KE, Anderson PA. Plasma 25-hydroxyvitamin D in growing kittens is related to dietary intake of cholecalciferol. *J Nutr* 1999; 129: 909-912.
 24. De Brito Galvao JF, Nagode LA, Schenck PA, et al. Calcitriol, calcidiol, parathyroid hormone, and fibroblast growth factor-23 interactions in chronic kidney disease. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)* 2013; 23: 134-62.
 25. Geisen V, Weber K, Hartmann K. Vitamin D-dependent hereditary rickets type I in a cat. *J Vet Intern Med* 2009; 23: 196-199.
 26. MacKenzie JM, Crawford J, Ghantous S. Successful therapy of vitamin D-dependant rickets in a kitten. *J Am Anim Hosp Assoc* 2011; 47: 290-293.

27. Phillips AM, Fawcett AC, Allan GS, et al. Vitamin D-dependent non-type 1, non-type 2 rickets in a 3-month-old Cornish Rex kitten. *J Feline Med Surg* 2011; 13: 526-531.
28. Ramachandran R, Benfield P, Dhillon WS, et al. Need for revision of diagnostic limits for medullary thyroid carcinoma with a new immunochemiluminometric calcitonin assay. *Clin Chem* 2009; 55: 2225-2226.