

DE LA VITAMINA D A LA HORMONA

Dra. MIRAVET, L.

Unidad 18, INSERM, 6 rue Guy Patin, 75010 París

La vitamina D no es una vitamina en el verdadero sentido de la palabra, puede sintetizarse endógenamente para suplir las necesidades totales y experimenta transformaciones sucesivas para ser activa, a nivel tisular. Las transformaciones ocurren en ciertos tejidos, es transportada por vía sanguínea y actúa en otros tejidos. La actividad celular, actualmente bien conocida, receptor-transcriptor genético, hacen de ella una hormona seco-esteroide (9, 10 seco-5, 7, 10 (19) colestatriene 3B o1). Se la considera una hormona esteroide calcitropa.

QUIMICA DE LA VITAMINA

Las vitaminas D son seco-esteroideas, el precursor 7-dehidrocolesterol se forma a partir del 7, colesterol. Los rayos ultravioletas transforman el 7-dehidrocolesterol, por apertura del ciclo B, entre los C9-C10, en pre-vitamina D; ésta por equilibrio isomérico térmico, se transforma en vitamina D.

La longitud de onda de los UV, tiene gran importancia; la banda activa es estrecha (290-310 nm) (1). El origen de estos rayos en situaciones fisiológicas, es casi exclusivamente solar. Sin embargo, ciertas lámparas (fluorescentes) producen también cantidades apreciables de los mismos.

La fuente solar es eficaz cuando el ángulo entre el sol y el horizonte es superior a 30° y sobre todo, cuando los rayos UV no son detenidos por filtros naturales o artificiales (nubes, polución atmosférica, vidrios).

SINTESIS VITAMINICA

El lugar de la síntesis depende de la especie animal. En el hombre, se produce en la epidermis, especialmente en la capa basal. El tipo de piel tiene importancia (2); las pieles de color y las ricas en queratina tienen una capacidad reducida de síntesis.

La piel blanca tiene una capacidad de síntesis muy elevada (6 UI/cm²/h), y se puede calcular

que la insolación de cara y manos por espacio de diez minutos, es suficiente para producir una tasa vitamínica normal.

ORIGEN EXOGENO

Con excepción de la falta total de sol, la vitamina D alimentaria puede reemplazar la falta de síntesis.

La ausencia de UV, por ejemplo en las inmersiones submarinas prolongadas (3), disminuye la tasa vitamínica a la mitad en tres meses, aún cuando la ingestión de vitamina haya sido normal (70 UI). En el invierno polar, la tasa vitamínica disminuye considerablemente si la dieta no es muy rica en vitamina D.

La absorción vitamínica puede tener importancia en algunas enfermedades digestivas. Está muy disminuida o es directamente nula, en casos de atrofia del enterocito (enfermedad celiaca) o en casos de exceso de desconjugación de las sales biliares (pululación de gérmenes por asa ciega), apareciendo con frecuencia las carencias clínicas (osteomalacias) (4) (5). La absorción vitamínica está relacionada con la de las grasas, pues utilizan los mismos mecanismos. Para que aquella se produzca, es necesario el fraccionamiento micelar con las sales biliares. El taurocolato y el glicolato aumentan la absorción (6).

Sin embargo, en los Estados Unidos de América, las tasas circulantes de vitamina D₂ (exógena pues es la que enriquece los alimentos) y de vitamina D₃ (de producción endógena), han sido medidas separadamente y ha sido comprobado que los derivados D₂ representan 20 a 30% de la vitamina circulante (7). Esto demostraría que el aporte exógeno de vitaminas tiene un papel secundario, en casos de insolación correcta.

HIDROXILACION EN C25

La primera transformación que sufre la vitamina D, es una hidroxilación en el C25, que ocurre en el hígado; un poco menos del 50% de la inyección de vitamina D en la rata carenciada, se en-

cuentra una hora después en el hígado. La 25 hidroxivitamina D formada, es liberada rápidamente hacia la sangre. Representa el metabolito vitamínico circulante; el hombre, en equilibrio vitamínico, tiene una relación de 1/5 a 1/4 entre vitamina D y 25 OH D.

La tasa de 25OH D es un buen índice del pool vitamínico orgánico. Actualmente, los dosajes de 25 OH D circulante, son confiables y reproducibles.

El método más empleado está basado en la radiocompetición, gracias a una proteína portadora citosólica de origen renal. Uno de los primeros hallazgos, realizado con este dosaje, es la importancia de la variación estacional y regional, lo cual confirma el papel del asoleamiento en la tasa de vitamina.

El hígado hidroxila la vitamina D, D₂ ó D₃, in vivo e in vitro; esta hidroxilación la hace también a los derivados sintéticos como el tachysterol (9) y el 1- α -hidroxicolecalciferol. El control de esta hidroxilación es diferente según los substratos; para los productos sintéticos, la hidroxilación es rápida y proporcional a la cantidad de substrato (hasta 25 μ g de taquisterol han sido probados en la rata) (9); para los productos naturales, la linealidad es respetada hasta 1 μ g/6g. de hígado. (10), después, aunque la reacción continúa, la pendiente de la curva es menor. Los mecanismos de este control, no se conocen, pero no dependen de la cantidad de 25 OH D, pues un aumento artificialmente producido de la misma, no disminuye la hidroxilación.

Las modificaciones de la cadena lateral vitamínica, inhiben la hidroxilación 25 (25 aza vit. D, 25 fluoro vit. D) (11).

En ciertas condiciones patológicas o experimentales, se han encontrado modificaciones de la hidroxilación: alteración de la función hepatobiliar (12); producción de inducción enzimática hepática (anticonvulsivantes); diabetes experimental de la rata por estreptozotocina (13). No hay acuerdo sobre la localización subcelular de la 25 hidroxilasa. Es sorprendente que se encuentre en la fracción microsomal de los animales carenciados y en las mitocondrias de la rata repleta de vitamina D (9). Además, la hidroxilasa microsomal necesita una fracción citosólica suplementaria para actuar in vitro.

La enzima es una mono-oxigenasa, dependiente del citocromo P450, necesita la presencia de NADPH y es inhibida por el óxido de carbono y la metipirona.

LA HIDROXILACION EN C1 O EN C24

Después de una hidroxilación obligatoria en C25, el derivado se fija en el riñón, para experimentar una segunda hidroxilación en el C1 o eventualmente en el C24.

La localización de estas hidroxilasas en el tubo renal, se conoce desde hace mucho tiempo. En el pollo y en la rata, se encuentran en los tubos contorneados proximales (14). Son mitocondriales y monoxidasas que utilizan oxígeno molecular (15). La del 1.25 (OH) D₂ (calcitriol), que ha sido la mejor estudiada, exige la presencia de magnesio, de NADPH, de una hemoproteína, del citocromo P450, de la ferredoxina y de una ferredoxina reductasa (16). La de la 24,25 (OH) D₂, no es tan conocida; la participación del citocromo P450 es discutida, pues el óxido de carbono no disminuye la formación de la misma.

La producción de los derivados dihidroxilados tiene un control muy estricto; múltiples factores de la regulación del metabolismo cálcico participan en el retrocontrol de la producción.

La producción de la 1.25 (OH)₂ in vivo, aumenta cada vez que un aporte suplementario de calcio es necesario, como durante el crecimiento, la gestación y la lactación.

Gracias a los estudios in vitro, se han podido diferenciar factores que actúan directamente sobre esta hidroxilación, sea activándola o inhibiéndola.

Entre los activadores, la acción de la hormona paratiroidea, es una de las individualizadas más rápidamente (18); las variaciones iónicas del calcio o del fósforo, posiblemente actúan por intermedio de la hormona (19). Como el aumento de la adenilciclasa, estimula in vitro la 1 α 25 hidroxilasa, es posible que la acción de la PTH se haga por intermedio de la misma. (20)

La acción estimulante de la calcitonina in vivo, ha sido explicada por una acción indirecta que se ejercería por la PTH; sin embargo ciertos trabajos in vitro, harían suponer una acción directa de aquella hormona.

Otras hormonas polipéptidas, p. ej., la insulina, la hormona de crecimiento y la prolactina, aumentan in vivo la tasa circulante de 1.25 (OH)₂ D: sin embargo, la acción directa de las mismas no es bien conocida aún.

En cuanto a las hormonas esteroideas, en particular gonádicas (estradiol testosterona) y glucocorticoides, no parecen tener una acción directa en dosis fisiológicas, pero modifican la tasa circulante de 1.25 (OH)₂D. Para las hormonas

gonádicas, la respuesta depende de la especie animal.

Hay factores iónicos, que no son el calcio o el fósforo, implicados; son en general, son factores exógenos, que podrían ser administrados como agentes terapéuticos o en intoxicaciones. Por ejemplo, el estroncio, los bifosfonatos, el etanol, la acidosis metabólica o el ácido maleico, son capaces de producir una inhibición de la 1α 25 hidroxilasa.

Cuando se descubrieron las hidroxilaciones renales (C1 o C24), se demostró que se hallan en relación, cuando una aumenta la otra disminuye (17); esto generalmente ocurre in vitro. Los elementos que hemos mencionado actúan en forma inversa: los estimuladores de la 1α 25 hidroxilasa, son inhibidores de la 24 R 25 hidroxilasa y viceversa.

Aunque el riñón es el principal productor de metabolitos hidroxilados, éstos pueden ser producidos en otros órganos. Además del riñón, la placenta puede sintetizar la 1.25 (OH) D. En algunas circunstancias patológicas, sarcoidosis, se han encontrado tasas considerables de 1.25 (OH)₂ D circulante, aun en el paciente anéfrico (21,22), habiéndose demostrado la capacidad de sintetizar la 1.25 (OH)₂D de los macrófagos pulmonares de los pacientes sarcoidóticos, in vitro. En el hueso, también se encuentra la 1α 25 hidroxilasa. Sin embargo, en condiciones fisiológicas y fuera de la gestación, el tejido renal es el principal productor 1.25 (OH)₂D.

Para la 24 R 25 hidroxilasa las cosas no son tan claras, pues aún en un paciente anéfrico, siempre es posible encontrarla en circulación. Parecería que esta hidroxilasa se halla más diseminada en el organismo; ha sido encontrada en el hueso, el cartilago y el intestino (23).

INTERACCION DE LA PARATHORMONA CON LOS METABOLITOS VITAMINICOS

Ya hemos visto que la PTH es capaz de estimular la 1α 25 hidroxilasa e inhibir la 24 R 25 hidroxilasa.

La 1.25 (OH)₂ D en todas sus acciones fisiológicas, aumenta la concentración de calcio plasmático y por su intermedio, frena la secreción de PTH. Cuando se administra calcitriol, en estado de carencia de vitamina D, la tasa de PTH disminuye antes que la calcemia aumente; esto puede estar relacionado al cambio del calcio intracelular antes de una modificación evidente de

la calcemia. Sin embargo, in vitro, la secreción de las células paratiroides disminuye cuando uno agrega al medio 1.25 (OH)₂ D a 10-11 M (24). Esto hace suponer que hay una acción directa sobre esta secreción. El 24.25 (OH)₂ disminuye también la secreción paratiroidea, pero es necesario una concentración 100 veces superior. Así pues, la PTH estimula la formación de 1.25 (OH)₂ D y por retrocontrol de ésta, disminuye la secreción de PTH.

LAS PROTEINAS PORTADORAS DE VITAMINAS

Los derivados vitamínicos D son liposolubles; el transporte se hace inmediatamente después de la absorción intestinal, por vía linfática y por las lipoproteínas, al igual que las grasas.

Rápidamente la unión se realiza en una α 2 globulina plasmática específica para el transporte vitamínico, D.B.P. o proteína "ligadora" de vitamina D (25). La proteína portadora de la vitamina D forma parte de las proteínas hormonales, es decir, no atraviesa la membrana celular, sólo el ligando libre entra en la célula y es fijado por receptores intracelulares específicos; en cambio, las proteínas portadoras de tipo nutricional, la haloproteína (complejo portadora + ligando) es reconocida por la membrana e introducida en la célula.

Las características bioquímicas de estas proteínas son bien conocidas. La de los mamíferos tienen un MW de 55000 y una constante de sedimentación de 4 S.

La proteína tiene un solo lugar de unión, la afinidad para los diferentes metabolitos no es idéntica. El orden decreciente para los principales metabolitos es: 25OH D, 24-25 (OH)₂D, 25.26 (OH)₂D > 1.25 (OH)₂ > vitamina D > previtamina D.

Aunque esta proteína representa un 0.5% de la totalidad de proteínas circulantes en el individuo normal y se encuentra alrededor de lo 300 mg/l., estando en un gran exceso de concentración en relación a la suma total de todos los metabolitos circulantes. La dosificación, sobre todo, si es realizada por inmunodifusión, permite observar que la concentración es relativamente estable; las disminuciones importantes han sido encontradas en insuficiencias hepáticas y síndromes nefróticos y un incremento, en el embarazo, probablemente por estimulación estrogénica. Fuera de estas situaciones particulares, no se han encontrado perturbaciones, el pool vitamínico no la afecta y

esto es comprensible si se considera que el 97% de la apoproteína circula libre.

Como los ligandos libres son reconocidos por la célula, las fracciones vitamínicas libres son aquellas rápidamente activas; así la DBP es una especie de primer almacenamiento de la vitamina.

LAS ACCIONES BIOLÓGICAS

No nos detendremos en las acciones biológicas de la vitamina D, actualmente bien conocidas. Desde el punto de vista biológico, la 1.25 (OH)₂ D es indiscutiblemente, el derivado más activo y es considerada actualmente como el producto tisular (26). La acción sobre la absorción intestinal del calcio es directa; en su ausencia, el transporte cálcico en el enterocito está perturbado y disminuido. El mecanismo de acción es conocido, el enterocito tiene receptores cromatinicos específicos; después de la fijación hay una transcripción, producción de mRNA y síntesis de nuevas proteínas entre las cuáles, la proteína ligadora de Ca, es la más conocida. (27). El actúa sobre las membranas de la célula y aumenta la permeabilidad al calcio modificando las lipoproteínas de la membrana (28). Tiene una acción sobre el hueso, pero ésta es sinérgica con la PTH. La 1.25 (OH)₂ D estimula la reabsorción ósea y por la liberación de calcio que ello provoca, conjuntamente con la entrada intestinal de calcio, aumenta la calcemia.

El efecto osteolítico ha sido probado tanto in vivo como in vivo (29). Sin embargo, desde que la vitamina D fue descubierta, los efectos antirraquítico y calcificante, la caracterizaron. El efecto de la 1.25 (OH)₂ D sobre las células formadoras, osteoblastos, ha sido más difícil poner en evidencia, porque aumenta la actividad de los osteoblastos presentes pero no su diferenciación (30), que parece depender de la hormona paratiroides. En cuanto a la calcificación, todavía hay una controversia; para algunos, actuaría directamente (31,32); para otros, la neocalcificación no es más que un efecto secundario de la normalización de los parámetros biológicos iónicos (26).

El efecto renal de la 1.25 (OH)₂ D es más difícil de precisar. Aumenta la reabsorción tubular del fósforo actuando en sentido contrario al de la PTH; con respecto al calcio, algunas experiencias mostrarían el aumento de la reabsorción, para otros como nosotros, en ausencia de PTH (rata paratiroidectomizada), la administración aguda aumenta considerablemente la elimina-

ción, actuando por lo tanto, en sentido contrario a la PTH para ambos electrolitos.

Para los otros metabolitos, y más particularmente para la 24.25 (OH)₂ D, las acciones fisiológicas son difíciles de probar, siendo menos activa que la 1.25 (OH)₂, en la actividad demostrada en modelos experimentales. Por cierto, la 24.25 (OH)₂ D es un producto intermedio del catabolismo vitamínico (24), puesto que la imposibilidad de lograr esta hidroxilación con los derivados fluorados, no modifica la actividad biológica de la molécula. Sin embargo, aunque la administración de la 24.25 (OH)₂ D sola actúa débilmente al parecer y con algunos parámetros particulares, en general, la administración simultánea de ambos metabolitos, corrige más rápidamente la falta de mineralización que se produce en la carencia (32) aún más, retarda la aparición de la hipercalcemia producida por la 1.25 (OH)₂ D. De aquí, nace la nueva hipótesis de la modulación del efecto de la 1.25 (OH)₂ D, por la 24.25 (OH)₂ D.

RECEPTOR DE LA 1.25 (OH)₂ D

La 1.25 (OH)₂ D se comporta desde el punto de vista celular, de manera análoga al de otras hormonas (estrógenos (33), progesterona (34), andrógenos (35), mineralocorticoides o glucocorticoides (36)).

El mecanismo implica una unión estereoespecífica con un receptor citoplasmático, la translocación del complejo hacia un receptor del núcleo y la inducción de una síntesis proteica "de novo" que produce una respuesta biológica.

El receptor ha sido identificado en el citoplasma para rápidamente ser asociado a la fracción cromatinica (27). El más estudiado, es el del enterocito del pollo; se trata de una proteína de 3,5 a 3,7 S, con un MW de aproximadamente 47000 (37), para algunos y de 80000, para otros.

La actividad de unión es destruida por los derivados alquilantes sulfidrilos (N-etilmaleimida o rodacetamida); cuando está libre.

Sin embargo, los alquilantes no actúan después que la unión se ha hecho, lo cual sugiere que hay un residuo cisteínico en la proximidad de la unión (27). Los mismo autores consideran que el fenómeno es a entropía positiva.

La utilización de numerosos análogos (27) ha mostrado la especificidad de los receptores para la 1.25 (OH)₂ D.

La activación del complejo receptor-esteroide es modificada débilmente por la temperatura

entre 4° y 23° C. Por otra parte, el coeficiente de sedimentación no se modifica por la unión.

Primeramente Haussler (38) y luego Norman (27), han purificado el receptor de 20 a 40000 veces.

La constante de disociación K_d se encontró entre 2×10^{-10} M (4°) y 7.1×10^{-11} (25°), la constante de asociación (K_{ass}) 0.9×10^7 M⁻¹ (0°) a 9.5×10^8 M⁻¹ (25°), y la de disociación (K_{diss}) 4.4×10^{-5} mm⁻¹ (4°) a 7.1×10^{-3} mm⁻¹ (25°) (27).

El número de lugares en una célula sería de 2000 y la unión de 500-700 pmoles de 1.25 (OH)₂D/mg. de proteína.

Rápidamente se demostró este receptor específico, con las mismas características bioquímicas en los órganos blanco de las vitaminas: paratiroides, riñón, células óseas.

Además, se encontró el receptor en las células que no eran consideradas como blanco de vitaminas: páncreas, cáncer mamario, macrófagos, monocitos, linfocitos T-B malignos o activados, timoblastos.

LA ACCION CELULAR DE LA 1.25 (OH)₂ D

La localización celular de los receptores de la 1.25 (OH)₂ D en las células hemopoyéticas, ha hecho considerar que el calcitriol podría estar implicado en la regulación y/o la actividad celular (39).

Ya en 1956 (40) se observó que una dieta pobre en vitamina D, aumentaba muchos centenares de veces, el número de mastocitos de la médula ósea. Más recientemente, en el niño raquítico, se corrigió la anemia y la hematopoyesis extramedular con la administración de vitamina. (41).

Además, la carencia vitamínica produce una susceptibilidad aumentada a las infecciones. (42) La respuesta a un estímulo inflamatorio inespecífico, estaría disminuida en estos casos y los leucocitos periféricos tendrían disminuida la motilidad y la capacidad de fagocitosis.

Desde el punto de vista experimental, los macrófagos y los leucocitos de la laucha carenciada de vitamina D, tienen una disminución de la migración espontánea y de la capacidad fagocitaria in vitro, que es corregida agregando calcitriol en el cultivo. Una nueva dimensión adquirió la acción celular in vitro de la 1.25 (OH)₂ D, cuando se observó que era capaz de inducir la diferenciación de células mieloides leucémicas, murinas o humanas, en macrófagos o granulocitos. (43).

La administración de 1.25 (OH)₂ prolonga la sobrevivencia de lauchas inoculadas con células leucémicas: de este hecho se puede deducir una posible aplicación terapéutica.

Se han encontrado receptores idénticos a los de los órganos blanco, en monocitos circulantes. La línea celular monocitos-macrófagos es capaz de producir reabsorción ósea in vitro. El osteoclasto (macrófago óseo) deriva también de los monocitos; no obstante, hasta el momento, no se han podido demostrar receptores para el calcitriol, los cuáles han sido hallados en los osteoblastos (células formadoras del hueso).

Además, los monocitos controlan la producción de una linfoquina OAF (factor activante de osteoclastos) secretada por los linfocitos estimulados por fitohemaglutinina (45). La administración de la fitohemaglutinina a los animales, acelera la diferenciación de los osteoclastos y aumenta el número de los mismos.

Por el contrario, los linfocitos no demuestran receptores para los calcitrioles hasta que se los estimula o son malignos. Los linfocitos normales no tienen receptores. De las células tímicas, los timoblastos tienen receptores, no así, los timocitos. Esto permite suponer una asociación entre los receptores del calcitriol y la actividad mitótica celular.

La producción de las interleuquinas linfocitarias es modificada por el calcitriol: la interleuquina 1 es estimulada, la interleuquina 2, por el contrario, es inhibida. (39)

Todos estos hechos dejan entrever que el calcitriol interviene en la diferenciación celular y la respuesta inmunitaria.

EN CONCLUSION:

La vitamina D no solamente debe ser considerada hoy, como una hormona esteroidecalcitroica, sino también como una sustancia con actividad más compleja y general que la adjudicada hasta el presente.

BIBLIOGRAFIA

- 1) MAC LAUGHLIN J.A., ANDERSON R.R., HOLICK M.I.
Spectral character of sunlight modulates photosynthesis of previtamin D₃ and its photoisomers in human skin. *Science* 216: 1001, 1982.
- 2) HOLICK M.P., MAC LAUGHLIN J.A., CLARK M.B., HOLICK S.A., POTTS J.J., ANDERSON R.R., BLANK I.H., PARRISH J.A.
Photosynthesis of previtamin D₃ in human skin and the physiologic consequences. *Science* 210, 203, 1980.
- 3) PREECE M.A., TOWLINSON S., RIBOT C.A., PRETREK J., KORN H.T., DAVIES D.M., FORD J.A., DUNNINGAN M.G., O'RIORDAN J.L.H.: Studies of vitamin D deficiency in man. *Anat. J. Med.* 44, 575, 1975.
- 4) THOMPSON G.R., LEWIS B., BOOTH C.C.
Absorption of vitamin D in control subjects and patient with intestinal malabsorption. *J. Clin. Invest.* 45, 96, 1966.
- 5) MIRAVET L., RAMBAUD J.C., LOUIS C., HIOCO D.
Absorption de la vitamine D₃ ³H dans les osteomalacies nutritionnelles. *Sem. Hop.* 45, 531, 1969.
- 6) CARRE M., MIRAVET L., HIOCO D.
Absorption de la vitamine D₃ étudiée à l'aide d'une solution micellaire de la vitamine D₃ ³H dans l'anse intestinale isolée de rat in situ. *CR Ac. Sc.* 166, 843, 1972.
- 7) HADDAD J.C., STAMP T.C.B.
Circulating 25 hydroxyvitamin D in man. *Am. J. Med.* 57, 57, 1974.
- 8) PONCHON G., DELUCA H.F.
The role of the liver in the metabolism of vitamine D. *J. Clin. Invest.* 48, 1273, 1969.
- 9) BHATTACHAYYA M.H., DELUCA H.F.
Comparative studies on the 25-hydroxylation of vitamine D₃ and dihydrotachysterol. *J. Biol. Chem.* 248, 2974, 1973.
- 10) FUICUSHIMA M., NISHII Y., SUZUKI M., SUDA T.
Comparative studies on the 25-hydroxylations of cholecalciferol and 1 α hydroxycholecalciferol in perfused rat liver. *Biochem. J.* 170, 495, 1978.
- 11) ONISKO B.L., SCHNOES H.K., DELUCA H.F., GLOVER R.S.
Metabolism and biological activity of 25-fluorocholecalciferol, 24 dehydrocholecalciferol and 25 dehydrocholecalciferol in the rat. *Biochem. J.* 182, 1, 1979.
- 12) LONG R.G., SKINNER R.K., WILLS M.R., SHERLOCK S.
Serum 25 hydroxyvitamin D in untreated parenchymal and cholestatic liver disease. *Lancet* II 650, 1976.
- 13) SULINOVICI S., ROGINSKI M.S.
Hepatic metabolism of vitamine D₃ streptozotocin-induced diabetic rat. *Acta Endocrinol.* 93, 346, 1980.
- 14) BRUNETTE M.G., CHAN M., FERRIERE C., ROBERTS K.D.
Site of 1.25 (OH)₂ vitamine D₃ synthesis in the kidney. *Nature* 276, 287, 1978.
- 15) KAWASHIMA H., TORIKAI S., KUBURAWA K.
Localisation of 25-hydroxyvitamin D₃ 1 α hydroxylase and 24 hydroxylase along the rat nephron. *Proc. natl. Acad. Sci.* 78, 1199, 1981.
- 16) GLAZARIAN J.G., SCHNOES H.K., DELUCA H.F.
Mechanism of 25-hydroxycholecalciferol 1 α hydroxylation. Incorporation of oxygen - 18 into the 1 α position of 25-hydroxycholecalciferol. *Biochemistry* 12, 1555, 1973.
- 17) KNUTSON J.C., DELUCA H.F.
25-hydroxyvitamine D₃ - 24 hydroxylase. Subcellular location and properties. *Biochemistry* 13, 1543, 1974.
- 18) GARABEDIAN M., HOLIK M.F., DELUCA H.F., BOYLE I.T.
Control of hydroxycholecalciferol metabolism by parathyroid glands. *Proc. Nat. Ac. Sc. USA* 69, 1673, 1972.
- 19) BOYLE I.T., GRAY R.W., DELUCA H.F.
Regulation by calcium of in vivo synthesis of 1,25 dihydroxycholecalciferol and 21,25 dihydroxycholecalciferol. *Proc. Natl. Acad. Sc.* 68, 2131, 1971.
- 20) HORIUCHI N., SUDA T., TAKAHASHI H., SHIMAZAWA E., OGATA E.
In vivo evidence for the intermediary role of 3' 5' - cyclic AMP in parathyroid hormone induced stimulation of 1 α 25 dihydroxyvitamin D₃ synthesis in rats. *Endocrinology* 101, 969, 1977.
- 21) LAMBERT Ph.W., AVIOLI R.C., BRACKETT N.C., TURNER R.T., GREENE A., FU I.Y., NORMAN H.B.
Evidence for extrarenal production of 1.25 dihydroxyvitamin D in man. *J. Clin. Inv.* 69, 722, 1982.
- 22) BARBOUR G.L., COBURN J.W., SLATOPOLSKI E., NORMAN A.W., HORST R.L.
Hypercalcemia in an anephric patient with sarcoidosis, evidence for extrarenal generation of 1.25 dihydroxyvitamin D. *N. Engl. J. Med.* 305, 440, 1981.
- 23) GARABEDIAN M., LIEBERHERR M., NGUYEN T.M., CORVOL M.T., BAILLY DUBOIR M., BALSAN S.:
The in vitro production on activity of 24.25 dihydroxycholecalciferol in cartilage and calvarium. *Clin. Orthop. Rel.* 135, 241, 1978.
- 24) NKO M., GRUSON M., GUERIS J., MOUKIAR M., REDEL J., DEMIGNON J., MIRAVET L.
Effects of vitamine D₃ dihydroxylated metabolites on parathyroid hormone in the rat. *Min. and Elect. Met.* 7, 67, 1982.
- 25) BOUILLON R., VAN BAELEN H.
Le transport des métabolites de la vitamine D. In *Vitamine D et maladies des os et du métabolisme minéral*, ed. by A. Fournier, M. Garabedian, J.L. Sebert, P. J. Meunier, Ph. Masson, Paris 1964 p. 63
- 26) DELUCA H.F.
Vitamin D metabolism and function. *Arch. Int. Med.* 138, 836, 1978.
- 27) NORMAN A.N., ROTH J., ORCI L.
The vitamin D endocrin receptors and biological response (calcium binding proteins) *Endocrine Reviews* 3, 331, 1982.
- 28) MATSUMOTO T., FONTAINE O., RASMUSSEN H.
Effect of 1.25 dihydroxyvitamine D₃ in phospholipid metabolism in chick duodenal mucosal cell: relationship to mechanism of action. *J. Biol. Chem* 256, 3354, 1981.
- 29) RAISZ L.G.
Direct effects of vitamin D and its metabolites on

- skeletal tissue.
Clin. Endoc. and Metab. 9, 27, 1980.
- 30) MARIE P.J., TRAVERS R.
Continuous infusion of 1.25 dihydroxyvitamin D₃ stimulates bone turnover in the normal young mouse.
Calc. Tissue Int. 35, 418, 1983.
- 31) MALLUCHE H.H., HENRY H., MEYER S., SABELLEK W., SHERMAN D., MASSRY S.G., NORMAN A.W.
Effects and interactions of 24 R, 25 (OH)₂ D₃ and 1,25 (OH)₂ D₃ on bone.
Am. J. Physiol. 238, E 494, 1980.
- 32) BORDIER Ph., MIRAVET L., MARIE P., GUERIS J., ROUSSELET F., NORMAN A., RASMUSSEN H., RYCKEWAERT A.
Action des métabolites de la vitamine D sur la minéralisation du tissu osseux et les troubles du métabolisme phosphocalcique au cours de l'ostéomalacie hypovitaminique D.
Rev. Rhum. 45, 241, 1978.
- 33) MILGROM E., ATGER M., BAULIEU E.E.
Acidophilic activation of steroid receptors.
Biochemistry 12, 5198, 1973.
- 34) O'MALLEY B.W., MEANS A.R.
Female steroid hormone and target cell nuclei
Science 183, 610, 1974.
- 35) BRUCHOUSKY N., WILSON J.D.
The intranuclear binding of testosterone and 5 α androsten - 17 B - ol - 3 one by rat prostate.
J. Biol. Chem. 243, 5953, 1968.
- 36) HIGGINS S.J., ROUSSEAU G.G., BAXTER J., TOMKINS G.M.
Early events in glucocorticoid action. Activation of the steroid receptors and its subsequent specific nuclear binding, studies in a cell free system.
J. Bul.chem. 248, 5866, 1973.
- 37) WICKSLER W.R., NORMAN A.W.
Biochemical properties of 1 α 25 hydroxyvitamin D receptors (reviews) J. Steroid Bioch. 13, 977, 1980.
- 38) MC CAIN R.A., HAUSSLER M.R., OKRENT D., HUGHES M.R.
Partial purification of the chick intestinal receptor for 1.25 dihydroxyvitamin D.
In vitamin D recent basic advances and their clinical application (Ed. by A.N. Norman et col) De gruyter Berlan, 1979 p 659.
- 39) MANOLAGAS S.C., DEFTOS L.J.
The vitamine D endocrine system an the hematolymphopoietic tissue (editorial)
Ann. Int. Med. 100, 144, 1984.
- 40) URIST M.R., MC LEAN F.C.
Mast cell in bones
Surg. Forum, 7, 590, 1956.
- 41) YETGIN S., OZSOYLU S.
Myeloid metaplasia in vitamine D deficiency rickets
Scand. J. Haematol, 28, 180, 1982.
- 42) STRUDER J.
Immunity in vitamin D deficient rickets.
In Vitamin D and Problems Related to Mesure Bone Disease ed. A.W. Norman and al, de Gruyter, Berlin pp 675, 1975.
- 43) SUDA T., ABE E., MIYAURA C., TANAKA H., SHIINA Y., KURIBAYASHI
Vitamin D in the differentiation of myeloid leukemia cell.
In Vitamin D ed Kumar R., Pub. Martinus Nijhoff, Boston 1984, p. 343.
- 44) BHALLA A.K., AMENTO E.P., CLEMENS T.L., HOLICK M., KRANE S.M.: Specific high affinity receptors for 1.25 dihydroxyvitamin D₃ in human peripheral blood mononuclear cells: presence in monocytes and induction in T lymphocytes following activation. J. Clin. End. Met. 57, 1308, 1983.
- 45) ISOUKAS C.D., PROVVEDINI D.M., MANOLAGAS S.C.
1.25 -dihydroxyvitamin D₃. A novel immunoregulatory hormone Science 224, 1438, 1984.