

La vitamina D y la insuficiencia renal crónica. Revisión bibliográfica

Por los Dres.:

RAUL FERNANDEZ REGALADO* y VLADIMIR B. SPIRICHEV**

Fernández Regalado, R.; V.B. Spirichev. *La vitamina D y la insuficiencia renal crónica. Revisión bibliográfica.* Rev Cub Ped 52: 6, 1980.

Los notables éxitos alcanzados en los últimos años en el estudio del metabolismo y el mecanismo de acción de la vitamina D no sólo han determinado un mejor conocimiento teórico en esta rama de la biología, sino que han abierto amplias posibilidades para el uso práctico de la vitamina D o sus metabolitos activos en la corrección de gran número de alteraciones morbosas del metabolismo calcio-fósforo.¹⁻¹⁴

1.1 Metabolismo de la vitamina D

Actualmente está demostrado que la vitamina D no realiza sus funciones en el organismo humano en la forma que ingresa a éste, ya sea con la dieta o por formaciones en la piel como consecuencia de la irradiación ultravioleta, sino en forma de sus metabolitos activos, el 25-OH colecalciferol, el 1, α 25-dihidroxicolecalciferol (1, α 25 (OH)₂ D) y al parecer el 24,25-dihidroxicolecalciferol (24,25-(OH)₂ D).

Las principales funciones de la vitamina D están relacionadas con los siguientes procesos fisiológicos:

1. Absorción del calcio y fósforo en el intestino delgado.^{4-8,15-17}
2. Movilización del calcio y fósforo del tejido óseo.^{4-9,15-18}
3. Reabsorción del calcio y fósforo en los túbulos renales.¹⁹⁻²¹

El raquitismo, enfermedad producida por la insuficiencia de vitamina D en el organismo, tiene como base fisiopatológica fundamental la alteración del mecanismo normal de mineralización del tejido óseo, como consecuencia de la disminución del calcio y fósforo en sangre, debido ello a su vez, a la alteración de los tres mecanismos fisiológicos anteriormente señalados.¹⁵⁻²² Sin embargo, la localización de la vitamina D o sus metabolitos activos en los condrocitos, productores de matriz orgánica^{23,24} y los cambios significativos que se producen en la estructura, velocidad de síntesis y maduración del colágeno óseo en la insuficiencia de vitamina D, dan fundamento para pensar en la posible participación de esta vitamina en la maduración de la matriz orgánica del hueso para el subsiguiente proceso de mineralización.^{14,24-26}

* Candidato a Doctor en Ciencias Médicas. ICBP "Victoria de Girón". Departamento de Bioquímica.

** Doctor en Ciencias Biológicas. Instituto de nutrición de la academia de ciencias médicas de la URSS, Moscú.

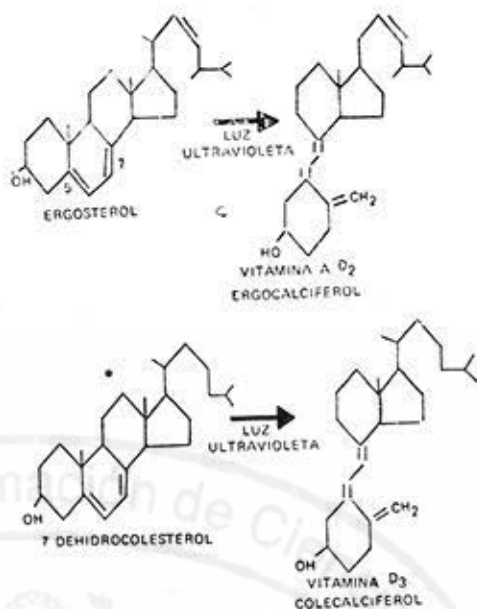
La vitamina D absorbida en el intestino, ya sea en forma de ergocalciferol (D_2) o de colecalciferol (D_3) es transportada al hígado por el sistema linfático; la vitamina D_3 formada en la piel por la irradiación ultravioleta del 7 dehidrocolesterol también es transportada al hígado por el sistema circulatorio.²⁷ (esquema 1).

En la fracción microsomal de la célula hepática, tanto la vitamina D_2 como la D_3 son sometidas a una hidroxilación enzimática en la plaza 25 de la molécula con la formación de los metabolitos 25-OH- D_2 y 25-OH- D_3 . El 25-OH-D se une a una α globulina (1 molécula de 25-OH-D por molécula de proteína)⁸ y es transportado al riñón. En los túbulos renales el 25-OH-D es convertido por la acción de las enzimas mitocondriales 25-OH-24 hidroxilasa y 25-OH 1 α hidroxilasa de la hidrovitamina D en los más polares metabolitos 1,25-(OH) $_2$ D y 24,25-(OH) $_2$ D.^{6,27-30} Ambas enzimas son oxidasas de función mixta y requieren Mg^{2+} , NADPH y oxígeno molecular para la inserción de un grupo hidroxilo, ya sea en la posición 1 α ó 24R del metabolito 25-OH-D. La enzima 24-hidroxilasa también se encuentra en el intestino.

El 1,25 (OH) $_2$ D es la forma activa de la vitamina D directamente responsable de sus efectos fisiológicos. La extirpación de los riñones elimina por completo el efecto de dosis fisiológicas de la vitamina D y el 25-OH-D sobre la absorción del calcio en el intestino delgado³¹ y su movilización del tejido óseo.³²

La concentración de 1,25 (OH) $_2$ D $_3$ es de 3-6 ng/dl²⁹ y su actividad antirraquítica es diez veces superior a la de la vitamina D y 3-4 veces superior a la del 25-OH-D. Mucho menos conocida es la función fisiológica de otro metabolito de la vitamina D, el 24,25-(OH) $_2$ D $_3$. Este metabolito también es formado en el riñón⁶ y también posiblemente en el tejido óseo.³³ Se ha planteado la hipótesis de que la formación de este metabolito constituye la primera etapa del catabolismo e inactivación de la vitami-

Esquema 1



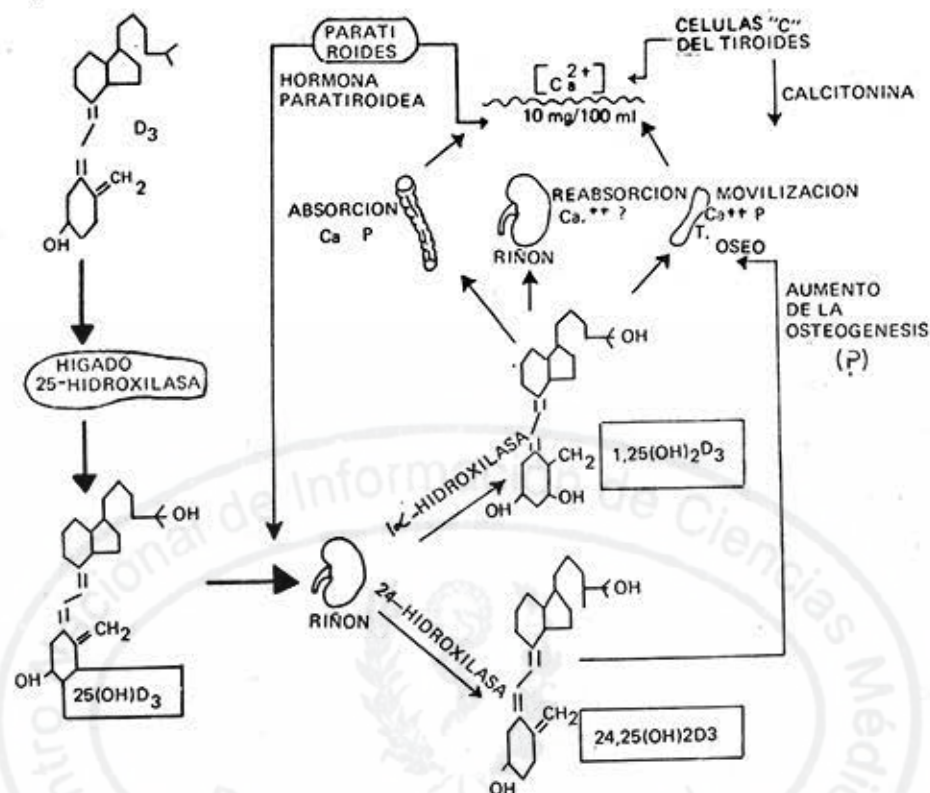
na D.³⁴ Sin embargo, en los últimos años han aparecido datos experimentales que indican que el 24,25 (OH) $_2$ D $_3$ puede desempeñar una importante función en la formación y calcificación de la matriz ósea.^{34,35}

Actualmente se considera que la vía más importante del catabolismo de la vitamina D, es decir, de su más activo metabolito, el 1,25 (OH) $_2$ D, comienza con la oxidación de una parte de la cadena lateral para formar CO $_2$.⁵ Sin embargo, los productos de esta oxidación no han sido aislados y se desconoce el sitio en que tiene lugar.

1.2 Regulación de la formación de los metabolitos activos de la vitamina D. Homeostasis del calcio

La formación de los metabolitos activos de la vitamina D se encuentra bajo el control de mecanismos capaces de regular la producción de éstos en límites bastante precisos, capaces de mantener la homeostasis del calcio en el organismo.⁶⁻⁸

Esquema 2



La regulación de la producción de los metabolitos activos de la vitamina D por el riñón depende de factores tales como las concentraciones en sangre del mismo 1,25 (OH)₂ D^{36,37} del calcio, fósforo^{38,39} y hormona paratiroidea HPT.⁴⁰ Los tres primeros factores inhiben la formación del 1,25 (OH)₂ D y por el contrario la HPT la estimula.

Una importante función en la regulación de la enzima 1 α hidroxilasa de la hidroxivitamina D parece pertenecerle a las concentraciones intracelulares e intramitocondriales de calcio y fósforo inorgánico al nivel de las células del epitelio tubular renal, donde, como ya se ha señalado, tiene lugar la síntesis del 1,25 (OH) D. Estimulan también la síntesis del 1,25 (OH) D, la hormona del crecimiento, la prolactina⁴¹ y las hormonas sexuales, en particular los estrógenos.⁴²⁻⁴⁵

A pesar de que el mecanismo concreto de la regulación de la formación del 1,25 (OH)₂ D no está completamente aclarado, sin embargo, los principios fundamentales pueden ser representados en el esquema 2.

De acuerdo con este esquema, la disminución de la concentración de calcio en sangre como consecuencia de la deficiente ingestión u otras causas determina un aumento en la secreción de hormona paratiroidea. Esta hormona aumenta la actividad de la enzima renal 1 α hidroxilasa, lo que conlleva un aumento en la formación de 1,25 (OH)₂ D. Este metabolito incrementa la absorción del calcio en el intestino y su movilización del tejido óseo y reabsorción al nivel renal, factores todos que tienden a elevar el calcio sanguíneo. En caso de un exceso de ingestión de Ca²⁺ el mecanismo funciona en sentido inver-

so. También el péptido de 32 aminoácidos derivado de las células parafoliculares del tiroides, conocido con el nombre de calcitonina, tiene una importante función como regulador del calcio en el organismo. Su acción consiste en disminuir el calcio total en sangre por inhibición de la reabsorción ósea inducida por la HPT y la vitamina D.²⁷

Este esquema constituye un típico ejemplo de regulación hormonal por retroalimentación negativa, lo que permite considerar al $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ como una hormona de muy importante participación en el control del metabolismo del calcio.²²⁻²⁴

Importante es en este esquema de control que la disminución de la actividad de la enzima 1α hidroxilasa y, por consiguiente, la menor formación de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ se acompaña de un aumento de otra enzima, la 24 hidroxilasa la que da lugar a la síntesis en el riñón del metabolito $24,25(\text{OH})_2\text{D}$, que en condiciones de normocalcemia es el principal dihidroximetabolito de la vitamina D circulante en sangre.^{4-6,46}

1.3 Mecanismo de absorción del calcio en el intestino

Fue demostrado por experimentos realizados en la década del 40 que la disminución de la absorción del calcio en el intestino delgado es una de las consecuencias principales de la deficiencia de vitamina D en el organismo.^{47,48} Desde esa época hasta el presente numerosos investigadores han dedicado sus esfuerzos a dilucidar por medio de diferentes métodos y en diferentes especies animales y el hombre, cuál es el mecanismo íntimo de acción de la vitamina D en el transporte del calcio al nivel intestinal.^{15,16,49-53}

Sin embargo, a pesar del progreso alcanzado en estos años, numerosos aspectos del mecanismo de acción de la vitamina D en este proceso no están completamente aclarados.

La absorción del calcio tiene lugar tanto por mecanismo activo como por difusión pasiva o facilitada.^{16,52} Esto ha sido demostrado por diversos investigadores por experimentos *in vitro* con segmentos aislados de intestino delgado o por experimentos *in situ*.^{51,55}

Wilkinson en 1971⁵² sobre la base de datos experimentales planteó la siguiente ecuación:

$$J = \frac{J_m (\text{Ca})}{(\text{Ca}) + K_t} + D (\text{Ca}) - J_o$$

donde:

J: velocidad neta de absorción del calcio en micromol a través de 10 cm de intestino y en una hora.

J_m : velocidad máxima de absorción en condiciones de saturación.

K_t : constante de Michaelis para el proceso de transporte activo.

Ca: concentración de Ca^{2+} en la luz intestinal (2-3m M)

D: coeficiente de difusión a través del epitelio intestinal.

J_o : velocidad de transporte del calcio en sentido contrario, es decir, de la corriente sanguínea de la luz intestinal.

En esta ecuación el primer término corresponde al sistema de transporte activo del calcio, el segundo a un proceso de difusión.

Los parámetros de esta ecuación han sido calculados:

J_m — 2,75 micromol/10 cm hora.

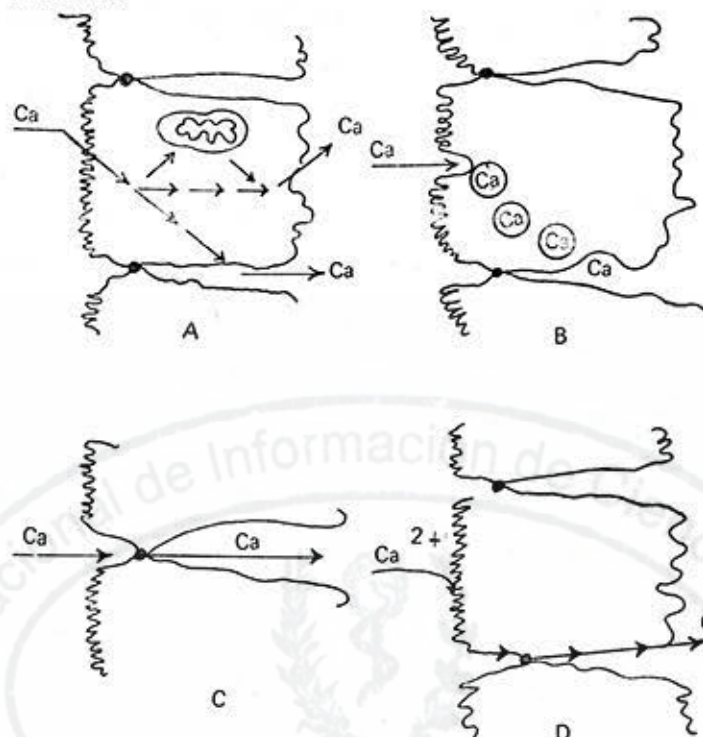
K_t — $0,875 \cdot 10^{-3}$ M.

D — 0,32 micromol/10 cm hora 10^{-3} M.

Uno de los aspectos teóricos en la actualidad más debatido con relación al mecanismo de transporte de este ion

Esquema 3

POSIBLES VIAS DE TRANSPORTE DEL Ca^{2+} A TRAVÉS DEL EPITELIO INTESTINAL



a través del intestino delgado, es la vía que sigue el calcio al atravesar la barrera de células epiteliales.

Existen 4 vías posibles, con respectivas argumentaciones favorables:

A) transcelular B) pinocitosis

C) intercelular D) "membranoso".^{52,56}

Los principios fundamentales del mecanismo transcelular y la posible participación de la vitamina D se observan en el esquema 3.

De acuerdo con esta variante el calcio penetra en el enterocito por gradiente de concentración (difusión) y es extraído de esta célula por un mecanismo activo que incluye la enzima K^+ , Na^+ ATPasa localizada en la membrana basal del enterocito.^{57,58}

La ouabaína inhibidor de la enzima K^+ Na^+ ATPasa inhibe el transporte activo del calcio cuando se añade del lado de la membrana basal del epitelio intestinal y no lo inhibe cuando se añade del lado apical,⁵⁷ resultados que dan base para apoyar esta hipótesis. Una importante función en este mecanismo desempeñan las mitocondrias del enterocito, que no permiten que la concentración de calcio en el enterocito sea superior a 10^{-6} M, lo que determina que exista un gradiente de concentración entre la luz intestinal y el citosol del enterocito.^{10,58}

A favor del mecanismo de pinocitosis existen datos de microscopía electrónica donde se muestra el calcio contenido en vesículas a su paso a través del enterocito.^{14,59,60}

En cuanto a la hipótesis de que el calcio pueda ser transportado por difusión lateral a través de la membrana del enterocito (membranoso)¹⁴ existen datos experimentales a favor, consistentes en que la absorción del calcio es disminuida por la citocolasina B, compuesto capaz de alterar la estructura y función de los microtúbulos.⁶¹

Es bastante posible que no sea sólo una la vía por la cual el calcio atraviesa la barrera intestinal, aunque éste es uno de los aspectos más discutidos en la actualidad.

1.4 Función de la vitamina D en el mecanismo de transporte de calcio en el intestino delgado

Diversos investigadores,^{62,63} estudiando la velocidad del transporte activo del calcio por segmentos aislados de duodeno de rata han encontrado que el gradiente de concentración creado a través de la mucosa intestinal es significativamente mayor en los animales normales que en los animales con deficiencia de esta vitamina.

Por otra parte, Harrison y Harrison,^{49,50} utilizando también una técnica de aislar segmentos de intestino delgado e incubarlos *in vitro*, demostraron que la vitamina D no sólo aumenta el transporte activo del calcio, sino también la difusión pasiva de este ion a través del enterocito, por cambios en la permeabilidad de la membrana apical de esta célula.

Con este último punto de vista concuerdan también los experimentos de otros investigadores,^{64,65} donde se demuestra que la incubación de segmentos de intestino delgado de pollo en presencia del antibiótico filipina, estimula el transporte activo del calcio por aumentar la permeabilidad a este ion en la membrana apical, lo que determina que haya más calcio disponible para el transporte activo localizado en la membrana basal.

Una función importante en la inducción de estos cambios de permeabilidad y, en general, en el mecanismo de transporte de calcio a través de la barrera intestinal, le ha sido asignada a una proteína localizada en las microvellosidades intestinales que muestra gran afinidad por este ion (*calcium binding protein* CaBP).^{1,17,51,66}

En animales privados de vitamina D no es posible aislar esta proteína, sin embargo, aparece después de la administración de ésta.

De acuerdo con una de las varias hipótesis (esquema 4) la vitamina D en forma de su metabolito activo el 1,25 (OH)₂ D induce la síntesis de la CaBP al deprimir un gen que codifica la síntesis de esta proteína.^{1,2,17} A favor de esta hipótesis existe el hallazgo en los núcleos de enterocitos de receptores específicos para el 1,25 (OH)₂ D.^{3,67-69} Sin embargo, por los estudios dinámicos de la respuesta de la administración del 1,25 (OH)₂ D ha sido demostrado que la acumulación de esta proteína no procede al incremento en la absorción del calcio, como debía esperarse de acuerdo con esta hipótesis.^{70,71} lo que ha puesto en duda la decisiva función asignada a esta proteína años atrás en el transporte del calcio.

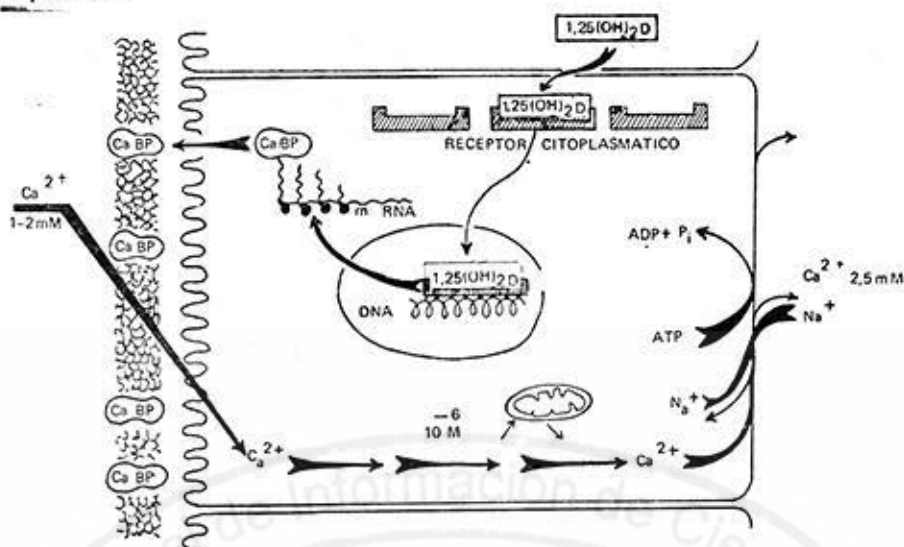
2.1 Análogos estructurales de la vitamina D y su utilización

En una serie de enfermedades o estados morbosos, tales como la insuficiencia renal crónica, el raquitismo vitamina D dependiente, el hipoparatiroidismo, la diabetes y otras^{2,4,13,27,72} se ha demostrado que existe una disminución en la síntesis del 1,25 (OH)₂ D.

La administración del 1,25 (OH)₂ D en estas situaciones normaliza el metabolismo óseo y cura o mejora las lesiones óseas.^{4,72-76}

Sin embargo, un impedimento que tiene la amplia utilización de este metabolito es la complejidad de su síntesis.

Esquema 4



Es por ello que se han utilizado otros análogos estructurales del $1,25(\text{OH})_2\text{D}$.

Entre estos análogos ha sido ampliamente utilizado el compuesto sintético 1α hidroxicolecalciferol ($1\alpha\text{OH D}$), que posee una actividad biológica similar a la del $1,25(\text{OH})_2\text{D}$.⁷⁷

Ya que en la molécula de $1\alpha\text{OH D}_3$ existe un grupo hidroxilo en la posición 1α , su efectividad, no depende de la enzima 1α hidroxilasa del riñón.

Este compuesto es transformado en el hígado en el metabolito $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ (esquema 2) por acción de la enzima 25 hidroxilasa de la vitamina D .⁷

La prueba biológica de este compuesto en animales de experimentación indica que: 1) su actividad biológica es aproximadamente cinco veces mayor que la de la vitamina D y algo menor que la del $1,25(\text{OH})_2\text{D}$.⁷⁷⁻⁸⁰ 2) El tiempo transcurrido entre su administración y sus efectos biológicos es como el del $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ muy corto (alrededor de 1 hora) en comparación con el tiempo que necesita la vitamina D 12-16 (horas) para que comience a aparecer sus efectos en el organismo.^{80,81} La dosis mínima capaz de producir efectos fisiológicos

en la rata es alrededor de 12,5-25 ng al día.

En animales nefrectomizados el $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ conserva su actividad biológica, mientras que la vitamina D es inefectiva.^{77,82,5} Administrando el $1\alpha\text{OH D}_3$ en dosis superiores a la fisiológica tiene efectos similares a la hipervitaminosis D , tales como hipercalcemia y calcinosis de diversos órganos, lo que puede conducir a graves lesiones de los mismos.^{11,83-85}

En experimentos realizados⁸⁰ ha sido establecido el LD_{50} para ratones y ratas en 300-600 microgramos/kg de peso y 340-720 microgramos/kg de peso, respectivamente.

La síntesis química de este compuesto, el $1\alpha\text{OH D}_3$ ha sido llevada a cabo en diversos laboratorios⁸¹ incluyendo el Instituto Nacional de Investigaciones de Vitaminas en la URSS.

2.2 Alteración del metabolismo del calcio y fósforo en la insuficiencia renal crónica y uso del 1 hidroxicolecalciferol en esta enfermedad

La insuficiencia renal crónica se acompaña habitualmente de alteraciones

del metabolismo del fósforo y el calcio. Se expresan estas alteraciones en hiperfosfatemia, disminución de la absorción del calcio en el intestino, hipocalcemia e hiperparatiroidismo secundario, todo lo cual da lugar, a su vez, a trastornos del metabolismo óseo, consistentes en osteomalacia, osteoporosis, osteítis fibrosa y en ocasiones osteosclerosis. Todas estas alteraciones óseas son conocidas con el nombre más general de osteodistrofia renal.^{27,80,86,87} En muchos enfermos se desarrolla calcinosis de tejidos blandos y vasos sanguíneos, y en particular, en el propio tejido renal, lo que no sólo empeora el estado de estos enfermos, sino que puede ser un serio impedimento para la realización del trasplante renal.

La hemodiálisis, aunque prolonga la vida de estos enfermos no es capaz, sin embargo, de normalizar el metabolismo mineral.⁸⁷

La patogénesis de los trastornos del metabolismo del calcio y fósforo en la insuficiencia renal crónica no está completamente aclarada.

Las causas principales parecen ser la hiperfosfatemia y la disminución de la absorción del calcio en el intestino, lo cual da lugar a la hipocalcemia e

hiperparatiroidismo secundario que se observa en estos pacientes (esquema 5).

La hiperfosfatemia es explicada por la disminución de la función excretora del riñón y la disminución de la absorción intestinal del calcio por déficit de formación del $1,25 (\text{OH})_2 \text{D}$.^{80,87-90}

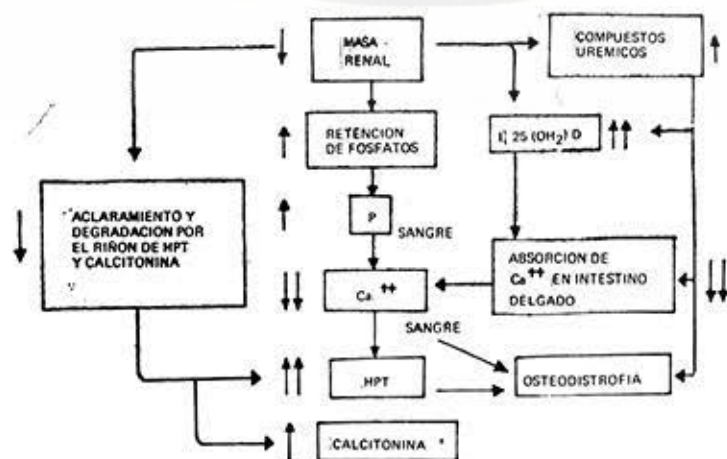
Sin embargo, en la literatura, existen datos⁹ de que el déficit de formación de $1,25 (\text{OH})_2 \text{D}$ se observa sólo en los estadios terminales, cuando la disminución de la velocidad de filtración glomerular es inferior a 20 ml/min.

Otra causa importante de disminución de la absorción intestinal del calcio en la insuficiencia renal crónica, puede ser el efecto tóxico del estado urémico sobre la síntesis del $1,25 (\text{OH})_2 \text{D}$ en el riñón.

Los métodos de corrección del metabolismo del calcio y el fósforo en estos pacientes están dirigidos en dos direcciones principales: 1) disminución de la hiperfosfatemia; 2) elevación de los niveles de calcio en sangre.

Para llevar a cabo lo primero, además de la hemodiálisis, se utilizan medicamentos capaces de impedir la absorción de fósforo en el intestino.^{87,91}

Esquema 5



Para alcanzar lo segundo se ha utilizado en los últimos años el 1,25 (OH)₂ D₃ y, sobre todo el 1 α OH D₃, ya que la disminución de la hiperfosfatemia por sí sola, no es capaz, al parecer, de elevar los niveles de calcio en sangre y mejorar las lesiones óseas.

La administración de 1 α OH D₃ a pacientes con insuficiencia renal crónica en dosis de 1-2 microgramos al día, por regla general, rápidamente incrementa la absorción de calcio en el intestino^{73,92,93} y normaliza su concentración en el plasma sanguíneo.^{88,94,95} Un efecto muy importante del 1 α OH D₃ parece ser la disminución de los niveles en sangre de hormona paratiroidea,⁹⁶ lo que puede ser debido a un efecto indirecto al normalizar el calcio sanguíneo o por efecto directo del 1,25 (OH)₂ D₃, (formado en el hígado a partir del 1 α OH D₃) sobre la biosíntesis y secreción de esta hormona.

En cuanto a las lesiones óseas, la mayoría de los autores coinciden en que una notable mejoría de éstas no se alcanza en todos los pacientes,^{95,97,98} a los que se les administra el 1 α OH D₃. Parece necesario que la administración de este medicamento sea por períodos prolongados de 6-11 meses. En estas condiciones de administración por períodos prolongados, diversos autores

han señalado normalización de la fosfatasa alcalina elevada en estos enfermos, mejoría de los procesos de mineralización ósea, disminución de la osteitis fibrosa y disminución de los dolores óseos.

Con relación a los efectos indeseables de este preparado uno de los más frecuentemente observados es la hipercalcemia que sin embargo, desaparece rápidamente al suspender la administración del mismo.

También se puede observar hiperfosfatemia por aumento en la absorción de fósforo en el intestino y disminución en la excreción (disminución de los niveles de hormona paratiroidea). En algunos pacientes bajo tratamiento con 1 α OH D₃ se han observado calcificaciones metastásicas, lo que constituye una seria complicación.⁹³ Sin duda parece de suma importancia mantener los niveles de fósforo en sangre entre valores no superiores a 5-6 mg/dl.

A pesar de la amplia utilización del 1 α OH D₃ en clínica, relacionado con la insuficiencia renal crónica, existe, sin embargo, poca evidencia experimental de los efectos de este compuesto, principalmente en su acción sobre el tejido óseo y otros parámetros del metabolismo del calcio y fósforo.

BIBLIOGRAFIA

1. Bauman V.K. Conocimientos actuales del mecanismo de acción y el metabolismo de la vitamina D en el organismo animal. *Prikladnabioximía i microbiología* 8 (2): 131-140 (URSS) 1972.
2. Norman, A.W.; H. Henry. 1,25-Dihydroxycholecalciferol — a hormonally active form of vitamin D₃. *Recent Progr Horm Res* 30, 431-473, 1974.
3. Norman, A.W.; H.L. Henry. Vitamin D to 1,25-Dihydroxycholecalciferol: evolution of a steroid. *Trends Biochem Sci*, 4 (1): 14-18, 1979.
4. De Luca, H.F. The Kidney as an endocrine organ involved in the function of vitamin D. *Am J Med* 58: (1): 39-47, 1975.
5. De Luca, H.F. Recent advances in our understanding of the vitamin D endocrine system. *J Lab Clin Med* 87 (1): 7-26, 1976.
6. De Luca H.F. Metabolism of vitamin D: current status. *Am J Clin Nutr* 29: 1258-1270, 1976.
7. De Luca, H.F. et al. The metabolism and function of 1 α-dihydroxyvitamin D₃. *Calcified Tissue Res* 2 (1): (Suppl.) 128-135, 1976.
8. De Luca, H.F. Vitamin D Metabolism. *Clin Endocrinol* 7. (Suppl.) 18-178, 1977.
9. De Luca H.F. Regulation of the vitamin D endocrine system located in the kidney. *Contr Nephrol* 13, 81-95, 1978.
10. Spirichev, V.B. Nuevos hallazgos en el metabolismo y mecanismo de acción de la vitamina D y sus aspectos prácticos. Ka-

- zanski meditsinski zhurnal 57 (5): 406-419, 1976.
11. Spirichev, V.B. Mecanismos bioquímicos de la hipervitaminosis D. Resumen de la tesis de doctorado. (URSS), 1977.
 12. Spirichev, V.B. Patogénesis y profilaxis del raquitismo a la luz de los conocimientos actuales del metabolismo y mecanismo de acción de la vitamina D. *Pediatría* 70-72, 1978.
 13. Spirichev, V.B.; I.I. Barashnev. Errores congénitos del metabolismo de las vitaminas. Ed. Meditsina. Moscú, 1977.
 14. Spirichev, V.B.; I.I. Barashnev. Vitaminas liposolubles y membranas *Zhurnal. Vsesoiuznov o khimicheskovo obshchestva a im. Mendeleeva* 23 (4): 425-434, 1978.
 15. De Luca, H.F. Mechanism of action and metabolism of vitamin D. *Vitamins and Hormones* 25: 315, 336, 1967.
 16. Wasserman, R.H. Calcium transport by the intestine: a model and comment in vitamin D action. *Cale Tiss Res* 2: 301-313, 1968.
 17. Bauman, V.K. et al. 1 α -hidroxitivitamina D₃: Síntesis química y acción biológica. *Prikladnaia bioximia i microbiologia*. 14 (2): 243-252 (URSS), 1978.
 18. Puschett J.B. et al. The acute renal tubular effects of 1,25-dihydroxycholecalciferol. *Proc Soc Exp Biol Med* 141: 379-384, 1972.
 19. Reynolds J.J. The role of 1,25-dihydroxycholecalciferol in bone metabolism. *Biochem Soc Spec Publ* (3): 91-102, 1974.
 20. Levine, B.S. et al. Does vitamin D affect the renal handling of calcium and phosphorus? *Mineral Electrolyte Metabolism* 1 (6): 295-302, 1978.
 21. Puschett, J.B.; M.S. Kuhrman. Renal tubular effects of 1,25-dihydroxy vitamin D: Interactions with vasopressin and parathyroid hormone in the vitamin D depleted rat. *J Lab Clin Med* 92, (6): 895-903, 1978.
 22. Omdahl J.L.; H.F. De Luca. Regulation of vitamin D metabolism and function. *Physiol Rev* 53 (2): 327-372, 1973.
 23. Wezeman, F. 25-Hydroxyvitamin D₃ autoradiographic evidence of sites of action in epiphyseal cartilage and bone. *Science* 194 (4269): 1069-1071, 1976.
 24. Corvol M.T. et al. Vitamin D and cartilage. 2: Biological activity of 25-hydroxycholecalciferol and 24,25- and 1,25-dihydroxycholecalciferol on cultured growth plate chondrocytes. *Endocrinology* 102 (4): 1269-1274, 1978.
 25. Teole, B.P. et al. Collagen heterogeneity within different growth regions of long bones of rachitic and non-rachitic chicks. *Biochem J* 127 (4): 715-720, 1972.
 26. Isaeva, V.A. et al. Estudio del rol de la vitamina D en el metabolismo del colágeno del tejido óseo de la rata. *Voprosi pitania* 1: 45-49 (URSS), 1974.
 27. Favus, M.J. Vitamin D physiology and some clinical aspects of the vitamin D endocrine system. *Med Clin North Am* 62 (6): 1291-1317, 1978.
 28. Fraser, D.R.; E. Kodicek. Unique biosynthesis by kidney of a biologically active vitamin D metabolite. *Nature* 228: 764-766, 1970.
 29. Norman, A.W. et al. Studies on calciferol metabolism. I: Production of vitamin D metabolite 4B from 25-OH-cholecalciferol by kidney homogenates. *Biochem Biophys Res Commun* 42: 1082, 1971.
 30. Gray, R.W. et al. 25-Hydroxycholecalciferol-1-hydroxylase: subcellular location and properties. *J Biol Chem* 247: 7528, 1972.
 31. Boyle, I.T. et al. The response of intestinal calcium transport to 25-hydroxy and 1,25-dihydroxy vitamin D in nephrectomized rats. *Endocrinology* 90: 605-608, 1972.
 32. Holick, M.F. et al. 1,25-Dihydroxycholecalciferol: a Metabolite of vitamin D, active in anephric rats. *Science* 176: 1146-1147, 1972.
 33. Garabedian, M. Control of 25-hydroxycholecalciferol metabolism by the parathyroid glands. *Proc Natl Acad Sci USA* 69, 1673, 1676, 1972.
 34. Ornoy, A. et al. 24,25-Dihydroxyvitamin D is a metabolite of vitamin D essential for bone formation. *Nature* 276 (5687): 517-519, 1978.
 35. Henry, H.L. Metabolism of 25-hydroxyvitamin D by primary cultures of chick kidney cells. *Biochem and Biophys Res Commun*, 74 (2): 768-774, 1977.
 36. Boyle, I.T. Regulation by calcium of in vivo synthesis of 1,25-dihydroxycholecalciferol and 21,25-dihydroxycholecalciferol. *Proc Natl Acad Sci USA*, 68: 2133-2134, 1971.
 37. Calante, L. et al. The regulation of vitamin D metabolism. *Nature*, 244 (5416): 438-440, 1973.
 38. Tanaka, Y.; H.F. De Luca. The control of 25-hydroxyvitamin D metabolism by inorganic phosphorus. *Arch Biochem Biophys* 154 (2): 565-574, 1973.
 39. Ribovich M.L.; H.F. De Luca. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ metabolism. The effect of dietary calcium and phosphorus. *Arch Biochem Biophys* 188 (1): 164-171, 1979.
 40. Fraser, D.R.; E. Kodicek. Regulation of 25-hydroxycholecalciferol-1-hydroxylase activity in kidney by parathyroid hormone. *Nature New Biol* 241: 163-166, 1973.
 41. Spanos E. et al. Effect of prolactin on vitamin D metabolism. *Mol Cell Endocrinol* 5 (3-4), 163, 167, 1976.
 42. Tanaka, Y. et al. Control of renal vitamin

- D hydroxylases in birds by sex hormones. *Proc Nat Acad Sci USA*. 73 (8): 2701-2705, 1976.
43. Baksi S.N.; A.D. Kenry. Does estradiol stimulate in vivo production of 1,25-dihydroxy-vitamin D_3 in the rat? *Science* 22 (9): 787-791, 1978.
 44. Tanaka, Y. et al. Synergistic effect of progesterone, testosterone and estradiol in the stimulation of chick renal 25-hydroxyvitamin D_3 -1 α -hydroxylase. *Endocrinology* 103, (6): 2035-2039, 1978.
 45. Pike, Y.W. et al. Influence of estrogen on renal vitamin D hydroxylases and serum 1 α -25 (OH) $_2$ D_3 in chicks. *Am J Physiol*, 235 (3): E338-E343, 1978.
 46. Lambert, P.W. et al. Isolation and quantitation of endogenous vitamin D and its physiologically important metabolites in human plasma by high pressure liquid chromatography. *J Steroid Biochem* 8 (9): 929-937, 1977.
 47. Nicolaysen, R. Studies upon the mode of action of vitamin D. The influence of vitamin D on the absorption of calcium and phosphorus in the rat. *Biochem J* 31 (1): 122-129, 1937.
 48. Nicolaysen, R. The absorption of calcium as a function of the body saturation with calcium. *Acta Physiol Scand* 1943, 5: 200-211.
 49. Harrison, H.E.; H.C. Harrison. Theories of vitamin D action in the transfer of calcium and strontium across biological membranes. N.Y. 229-251, 1963.
 50. Harrison, H.E.; H.C. Harrison. Calcium In: Biomembranes, ed. D.U. Smlnth. Intestinal absorption. 1974. Pp 793-846.
 51. Wasserman, R.H.; A.N. Taylor. Some aspects of the intestinal absorption of calcium with special reference to vitamin D In: Mineral metabolism (New York) 196, 9,3,321-403.
 52. Wasserman, R.H.; A.N. Taylor. Gastrointestinal absorption of calcium and phosphorus. In: Handbook of Physiology Sec. 7 Endocrinology VII: 137-155, 1976.
 53. Spirichev, V.B. Vitamina D. URSS Libro redactado por V.B. Spirichev ed Meditsina 1974.
 54. Schachter D. Active transport of calcium by the small intestine of the rat. *Am J Physiol* 198 (2): 263-268, 1960.
 55. Schachter D. et al. Active transport of calcium by intestine: action and bio-assay of vitamin D. *Am J Physiol*. 200: 1263-1271, 1961.
 56. Parkinson, D.K.; I.C. Radde. Ca^{2+} — sensitive ATP ase in duodenal mucosa localization in basal membranes In: Cellular mechanisms for calcium transfer and homeostasis. N.Y. London Acad Press 1971. P 506.
 57. Adams T.H.; A.W. Norman. Studies on the mechanism of action of calciferol. 1. Basic parameters of vitamin D mediated calcium transport. *J Biol Chem* 245 (17): 4421-4431, 1970.
 58. Hamilton, J.W.; E.S. Holdsworth. Calcium transport by the chick small intestine. The role of vitamin D, the mitochondria and binding protein. *Calcified Tiss. Res.* 34: 284, 1969.
 59. Terepka, A.R. Transcellular transport of calcium In: Calcium in biological systems p 117-140, 1976.
 60. Schachter, D.; S.M. Rosen. Active transport of Ca^{45} by the small intestine and its dependence on vitamin D. *Am J Physiol* 196 (2): 357-362, 1959.
 61. Fuchs, R.; M. Peterlik. Vitamin D-induced transepithelial phosphate and calcium transport by chick jejunum. Effect of microfilaments and microtubular inhibitors. *FEBS Letters* 100 (2): 357-358, 1979.
 62. Harrison, H.E. Vitamin D and calcium and phosphate transport. *Pediatrics* 28: 531, 1961.
 63. Harrison, H.E.; H.C. Harrison. Vitamin D, and permeability of intestinal mucosa to calcium. *Am J Physiol* 208: 370, 1965.
 64. Adams H. et al. Studies on the mechanism of action of calciferol. 2. Effects of the polyene antibiotic, filipin, on vitamin D-Mediated calcium transport. *J Biol Chem* 245 (17): 4432-4442, 1970.
 65. Wong, R.C.; A.W. Norman. Studies on the mechanism of action of calciferol. VIII. The effects of dietary vitamin D and the polyene antibiotic filipin, in vitro, on the intestinal cellular uptake of calcium. *J Biol Chem* 250 (7): 2411-2419, 1975.
 66. Wasserman, R.H.; R.A. Corradino. Vitamin D. Calcium and protein synthesis. *Vitamins and Hormones* 31: 43, 103, 1973.
 67. Lawson, D.E.M.; J.S. Emtage. Localization and function of 1,25-hydroxycholecalciferol in chick intestine. *Biochem Soc Spec Publ* 3: 75-90, 1974.
 68. Procsa, D.A. et al. Structural requirements for the interaction of 1 α , 25-(OH) $_2$ — vitamin D_3 with chick intestinal receptor System. *J Biol Chem* 250 (21): 8382-8388, 1975.
 69. Zile, M. et al. Localization of 1,25-dihydroxy vitamin D in intestinal-nuclei in vivo. *Arch Biochem Biophys* 188 (1): 15-24, 1978.
 70. Spencer, R. The relationship between vitamin D-stimulated calcium transport and intestinal calcium-binding protein in the chicken. *Biochem J* 170-93-101, 1978.
 71. Morrissey, R.L. et al. Intestinal response to 1 α , 25-dihydroxycholecalciferol. I. RNA polymerase alkaline phosphates calcium and phosphorus uptake in vitro and in vivo calcium transport and accumulation. *Biochem Biophys Acta*, 538, 23-33, 1978.

72. Brickman, A.S. et al. 1,25-dihydroxyvitamin D in normal man and patients with renal failure. *Ann Intern Med* 80 (2): 161-168, 1974.
73. Balsan, S.; M. Garabedian. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ in children. *Pediatr Res* 9: 586-593, 1975.
74. Near R.M. et al. Effects of 1 α -dihydroxyvitamin D on calcium and 1,25 dihydroxyvitamin D on calcium and phosphorus metabolism in hypoparathyroidism. *Metabolism* 24 (12): 1403-1413, 1975.
75. Habener J.F.; I.E. Mahaffey. Osteomalacia and disorders of vitamin D metabolism. *Ann Rev Med Selec Clin Sci* 29: 327-342, 1978.
76. Holick, M.F. et al. 1- α -hydroxy derivative of vitamin D: A highly potent analog of 1 α Alpha, 25 dihydroxyvitamin D₃. *Science* 180: 190-191, 1973.
77. Holick M.F. et al. Biological activity of 1 α -hydroxyvitamin D₃ in the rat. *Arch Biochem Biophys* 166: 63-66, 1975.
78. Spirichev, V.B. Estudio del efecto tóxico de la vitamina D₂. *Vitamins* 6: 64-91 (Kiev., URSS), 1971.
79. Spirichev, V.B. Estudio de la hipervitaminosis D y su diagnóstico bioquímico. *Pediatría* 11: 30-36 (URSS), 1973.
80. Makita, T. et al. Toxicologic studies of the hormonal form of vitamin D₃ acute and subacute toxicity of 1 α -hydroxycholecalciferol. *Toxicol. Appl Pharmacol* 36 (2): 323-329, 1976.
81. Barton, D.H.R. et al. A convenient synthesis of 1 α -hydroxyvitamin D. *J Am Chem Soc* 95 (8): 2748-2749, 1973.
82. Moriuchi, S. et al. Biological activity of 1 α -oxyvitamin D₃ in nephrectomized rats. *Vitamin* (5): 299-232, 1975.
83. Slatopolsky E. et al. How important is phosphate in the pathogenesis of renal osteodystrophy? *Arch Intern Med* 13 (8): (Spec. Issue) 842-852, 1978.
84. Partiff, A.W. Soft Tissue calcification in uremia. *Arch Intern Med* 124: 544-556, 1969.
85. Rosen, H. et al. Azotemic arteriopathy. *Am Heart J* 84 (2): 250-255, 1972.
86. Coburn, J.W.; A.S. Brickman. Use of newer vitamin D analogues in renal osteodystrophy treatment. *Dialysis and Transplant* 5 (1): 64-69, 1976.
87. Avioli, L.V. Controversies regarding uremia and acquired defects in vitamin D₃ metabolism. *Kidney Intern.* 13 (Suppl. 8): S36-S38, 1978.
88. Coburn J.W. et al. Intestinal absorption of calcium and the effect of renal insufficiency. *Kidney Intern* 7: 96-104, 1973.
89. Herrath, von D. et al. Die Behandlung der urämischen Osteopathie. *Munch Med Wochenschr* 116 (37): 1573-1578, 1974.
90. Fournier, A.E. et al. 1 α -hydroxycholecalciferol in renal bone disease. *Calcified Tiss Res* 21: (Suppl.), 226-235, 1976.
91. Davison, A.M. et al. Phosphate and 1 α -hydroxyvitamin D therapy in haemodialysis patients. *Clin Endocrinol* 7: (Suppl.), 918-99S, 1977.
92. Chang, J.C.M. et al. 1 α -Hydroxyvitamin D₃ in chronic renal failure. *JAMA* 234 (1): 47-52, 1975.
93. Walker, G.S. et al. Prophylactic 1 α -Hydroxyvitamin D therapy in haemodialysis patients. *clin Endocrinol* 7: (Suppl.), 1258-1308, 1977.
94. Winney, R.J. et al. The effect of dialyzate calcium concentration and 1 α -hydroxyvitamin D on skeletal calcium loss and hypoparathyroidism in haemodialysis patients. *Clin Endocrinol* 7: (Suppl.), 151S-158S, 1977.
95. Peacock, M. et al. Action of 1 α -hydroxyvitamin D in man. In: *Vitamin D and problems related to uremic bone disease*. Berlin, New York: 1978, 611-617.
96. Altenahr, E. et al. The effect of 1,25-dihydroxycholecalciferol on the parathyroid hormone secretion of porcine parathyroid glands and parathyroid adenomas in vitro. *Acta Endocrinol* 86 (3): 533-538, 1977.
97. Postlethwaite, R. J.; I.B. Houston. Bone disease in children with chronic renal failure: Therapy with 1 α -hydroxyvitamin D₃. *Clin Endocrinol* 7: (Suppl.) 117S-124S, 1977.
98. Peacock, M. et al. Action of 1 α -hydroxyvitamin D in man In: *Vitamin D in man In: Vitamin D and problems related uremic bone disease*. Berlin, New York 1975, 611-617.

Recibido: marzo 18, 1980.

Aprobado: junio 20, 1980.

Dr. Raúl Fernández Regalado.
ICBP. "Victoria de Girón"
146 No. 3102. Playa.
La Habana, 16.