

Papel de la 24,25(HO)₂D₃ en el tratamiento de la osteodistrofia renal

M. Popovtzer y D. Rubinger

Servicios de Nefrología e Hipertensión y Centro de Osteoporosis de Jerusalén. Hospital Universitario Hadassah. Jerusalén (Israel).

En la mayoría de los pacientes con patología renal crónica aparece un hiperparatiroidismo secundario, incluso aunque la alteración funcional sea mínima¹⁻⁴. El aumento de la fracción de excreción de fosfato y la disminución de la fracción de excreción de calcio, que son evidentes en los primeros estadios de patología renal, reflejan la respuesta tubular al hiperparatiroidismo secundario^{3,4}. El calcio y el fosfato sérico se mantienen dentro de límites normales, mientras que los niveles de calcitriol sérico son variables, pero continúan dentro de la normalidad, al comenzar la insuficiencia renal^{5,6}. En este estadio, la hiperfunción paratiroidea se puede normalizar con calcio intravenoso^{1,4}, restricción de fosfato y calcitriol oral⁷. A medida que progresa la insuficiencia renal es más difícil inhibir las glándulas paratiroides^{1,4} y, eventualmente, se vuelven refractarias al tratamiento médico.

La osteítis fibrosa es la forma más común de osteodistrofia renal, tanto en adultos como en niños, con patología ósea crónica⁸⁻¹². Un estudio reciente demostró patología ósea hiperparatiroidea en el 64 % de los pacientes en hemodiálisis crónica, a pesar del tratamiento concomitante con calcitriol¹³. El hiperparatiroidismo secundario da lugar a una enfermedad ósea incapacitante, calcificaciones metastásicas y lesión de otros sistemas⁸⁻¹⁴.

Los intentos de inhibición del hiperparatiroidismo secundario con calcio oral han tenido un éxito desigual¹⁵. En pacientes con insuficiencia renal avanzada, la sensibilidad de las paratiroides al calcio está reducida. Esta anomalía se puede evaluar midiendo un «punto fijo», que se define como la concentración de calcio que suscita el 50 % de la disminución máxima que se puede conseguir de la concentración de PTH. En pacientes en diálisis crónica, este «punto fijo» está desplazado; es decir, se precisa una mayor elevación del calcio para conseguir el 50 % de la inhibición máxima de PTH¹⁶. Yamamoto y cols.¹⁷ han puesto en evidencia recientemente que, en ratas con función renal normal, una elevación mantenida del calcio sérico disminuye los niveles del estado estacionario de RNAm PTH a través de un mecanismo genómico. La hipercalcemia inducida con calcio i.v. en pacientes en diálisis no normaliza los niveles de PTH¹⁶.

Consideraciones terapéuticas: papel de la vitamina D₃

Nosotros hemos demostrado que cantidades fisiológicas de calcitriol inhiben el RNAm PTH independientemente de los niveles de calcio^{18,19}. Otros autores también han publicado estos resultados, tanto en ratas con función renal normal como disminuida²⁰.

En muchos casos, el calcitriol es ineficaz para disminuir los niveles de PTH en pacientes en diálisis^{21,22}. En este sentido se le han atribuido dos desventajas a la vía oral. Primero, su acción directa sobre el intestino puede producir unas concentraciones séricas elevadas de calcio y fosfato que limitan la continuación del tratamiento. Segundo, la degradación intestinal del calcitriol²³ impide conseguir unos niveles séricos elevados de su metabolito esencial para la supresión de la síntesis de PTH.

En vista de las imperfecciones de la terapéutica oral, se ha propuesto la vía intravenosa. En estudios clínicos, la administración i.v. se asoció con un aumento impresionante de los niveles séricos de calcitriol que inhibieron los niveles de PTH; no se pudo reproducir un efecto similar con unas dosis iguales de calcitriol oral²¹. La disminución de los niveles de PTH en pacientes urémicos que recibían calcitriol intravenoso se hacía aparente antes de que se modificara el calcio sérico²¹ y se asociaba con una vuelta a la normalidad del punto fijo para la supresión de PTH¹⁶.

En un ensayo reciente con calcitriol i.v. a largo plazo en pacientes con diálisis con hiperparatiroidismo secundario se produjeron modificaciones bastante ambiguas de la histología ósea²². Se observó una disminución muy importante y significativa de la formación de hueso sin alteraciones significativas del número de osteoclastos²². Los autores comentaron que estas modificaciones no podían explicarse en su totalidad por la supresión de la PTH, sugiriéndose un efecto directo del calcitriol sobre el hueso.

Los niveles altos de calcitriol ejercen efectos directos en el hueso. Estos efectos consisten en: 1) inducción de la diferenciación de osteoclastos a partir de células precursoras; 2) aumento de la formación de células multinucleadas portadoras de características de osteoclastos²⁴⁻²⁸; 3) disminución de la tasa de aposición de matriz ósea; 4) supresión de la síntesis de colágeno²⁴⁻³¹, y 5) deterioro de la mineralización ósea²⁸. Se cree que los efectos anabólicos del calcitriol sobre el crecimiento óseo están mediados por sus acciones intestinales, a través de un mayor aporte de calcio y fosfato al hueso²⁸. Popovtzer y cols.³² fueron los primeros en documentar una curación

Correspondencia: M. Popovtzer.
Servicio de Nefrología e Hipertensión.
Centro de Osteoporosis de Jerusalén.
Hospital Universitario Hadassah.
Jerusalén (Israel).

clínica e histológica completa de la osteomalacia en varones con deficiencia de vitamina D sin tratamiento con vitamina D, únicamente con la administración intravenosa de calcio y fosfato.

El efecto neto de los niveles altos de calcitriol sobre el hueso estará determinado por el equilibrio entre los dos procesos principales activados por esta metabolito: 1) supresión de la secreción de PTH, y 2) acciones directas en el hueso. La supresión de la PTH dará lugar a una disminución de las tasas de reabsorción ósea y formación de hueso. A través de su acción directa, el calcitriol puede disminuir la formación de hueso y potenciar la reabsorción osteoclástica. Así, durante el tratamiento i.v., la interacción entre unos niveles elevados de calcitriol y la disminución de los niveles de PTH tendrá como resultado un sinergismo de cara a la formación de hueso, pero un antagonismo con respecto a la reabsorción ósea. El resultado final de las interacciones anteriores será una reducción de la formación de hueso con un efecto variable sobre la reabsorción ósea. Recientemente hemos publicado los efectos de dosis altas de calcitriol en ratas con nefrectomía de 5/6³³. La PTH elevada disminuyó hasta la normalidad y la formación de hueso disminuyó de forma marcada; sin embargo, el número de osteoclastos no se modificó significativamente. Se han observado resultados similares en un ensayo clínico reciente con calcitriol i.v. en pacientes con hiperparatiroidismo secundario grave²². El calcitriol i.v. inhibió la PTH y normalizó la tasa de formación de hueso; sin embargo, no modificó significativamente el recuento de osteoclastos.

Los datos anteriores sufieren que el calcitriol i.v. inhibe la PTH y disminuye la formación de hueso; sin embargo, su efecto sobre la reabsorción ósea es variable. En este sentido, la administración de 24,25(OH)₂D₃ en combinación con metabolitos 1-alfa-hidroxilados de la vitamina D, como se indicará más adelante, puede inclinar la balanza del metabolismo óseo en la dirección deseada.

Consideraciones terapéuticas: papel de la 24,25(OH)₂D₃ combinada con metabolitos 1-alfa-hidroxilados de la vitamina D

Estudios experimentales

Un número creciente de datos clínicos y experimentales sugiere un papel biológico para la 24,25(OH)₂D₃ en el metabolismo óseo. Galus y cols.³⁴ pusieron de manifiesto en perros con deficiencia de vitamina D que la administración de 24,25(OH)₂D₃ aumentaba la formación de hueso y la mineralización, disminuyendo la reabsorción ósea, mientras que la 1-alfa-(OH)₂D₃ aumentaba tanto la mineralización ósea como la reabsorción de hueso.

La 24,25(OH)₂D₃ bloqueó de forma dosis-dependiente la adenilato ciclasa activada por PTH en rata calvaria y cé-

lulas osteoblásticas³⁵⁻³⁷, pero potenció la adenilato ciclasa estimulada por calcitonina. La administración prolongada de 24,25(OH)₂D₃ obliteró la actividad adenilato ciclasa sensible a PTH en fracciones de membrana de calvaria³⁶. Tanto los experimentos *in vivo* como *in vitro* sugieren que la 24,25(OH)₂D₃ interfiere directamente en el hueso con las acciones esqueléticas de la PTH³⁶.

Okazaki y cols.³⁸ han puesto en evidencia recientemente que la 24,25(OH)₂D₃ inhibe la formación de pseudoosteoclastos en células en cultivo, tanto la estimulada por PTH como la estimulada por calcitriol.

Nosotros hemos descubierto que la 24,25(OH)₂D₃ inhibe el efecto hipercalcémico del calcitriol en ratas con nefrectomía de 5/6³⁹. Además, nuestros estudios histomorfométricos en hueso demostraron que el efecto anterior de la 24,25(OH)₂D₃ se asociaba con una disminución muy importante de la actividad osteoclástica⁴⁰. En este modelo, aun a pesar de que el calcitriol disminuyó la PTH hasta normalizarla, se redujo la reabsorción osteoclástica sólo modestamente³³. La administración combinada de 24,25(OH)₂D₃ con calcitriol suscitó la supresión más intensa de la reabsorción osteoclástica, aun a pesar de no disminuir la PTH por debajo del nivel conseguido con calcitriol solo. Estos resultados implicaban que la 24,25(OH)₂D₃ actúa virviendo la reabsorción ósea osteoclástica independiente de la supresión de PTH.

En ratas, la 24,25(OH)₂D₃ disminuye del mismo modo que el calcitriol los niveles de mRNA pre-pro-PTH. Sin embargo, es menos potente en este sentido que el calcitriol^{18,19}. Fukagawa y cols.²⁰ consiguieron inhibir los niveles elevados de mRNA PTH con ambos, 100 pmol de calcitriol o 500 pmol de 24,25(OH)₂D₃ en ratas con nefrectomía de 5/6. Estos resultados sugieren que el 24,25(OH)₂D₃ suprime directamente la síntesis de PTH.

Estudios clínicos

Brickman y cols.⁴¹ y Peraino y cols.⁴² demostraron un efecto reductor del calcio para la 24,25(OH)₂D₃, tanto en pacientes normocalcémicos como hipercalcémicos, sometidos a hemodiálisis crónica.

La administración prolongada de 24,25(OH)₂D₃, combinada con dihidrotaquisterol en niños sometidos a hemodiálisis crónica, dio lugar a una disminución del 70 % de la superficie ósea cubierta por osteoclastos⁴³.

Mortensen y cols.^{36,37} revelaron que los niveles séricos de 24,25(OH)₂D₃ en pacientes con insuficiencia renal crónica se correlacionaban inversamente con la adenilato ciclasa estimulada por PTH en biopsias de cresta iliaca. La actividad adenilato ciclasa se correlacionaba directamente con la reabsorción ósea. Este resultado se interpretó como índice de que la 24,25(OH)₂D₃ sirve como importante modulador fisiológico de la reabsorción ósea inducida por PTH. Mortensen y cols.³⁷ ampliaron sus observaciones investigando tres grupos de pacientes urémicos: 1) pacientes tratados con 24,25(OH)₂D₃ sola; 2) pacientes tratados

con una dosis alta de 24,25(OH)₂D₃, y 3) pacientes tratados con una combinación de calcitriol y 24,25(OH)₂D₃. La adenilato ciclasa ósea neta activada por PTH se vio completamente abolida tras dos meses de tratamiento con 24,25(OH)₂D₃ sola o en combinación, mientras que el calcitriol solo dio lugar a una disminución menor de la actividad enzimática. Los autores concluyeron que la 24,25(OH)₂D₃ restaura el recambio óseo en la uremia en línea con el calcitriol.

Varghese y cols. demostraron recientemente que la 24,25(OH)₂D₃ producía una disminución significativa de los niveles de PTH en pacientes dializados y convertía a las glándulas paratiroides que no eran susceptibles a la supresión mediante infusión de calcio en susceptibles a la misma⁴⁴.

Nosotros hemos efectuado el primer ensayo controlado y randomizado de evaluación del efecto de la 24,25(OH)₂D₃ combinada con 1-alfa-(OH)D₃ en comparación con la 1-alfa-(OH)D₃ en la osteodistrofia renal de pacientes sometidos a hemodiálisis crónica⁴⁵.

A 58 pacientes se los distribuyó al azar en: 1) un grupo control que recibía sólo 1-alfa-(OH)D₃, y 2) un grupo de tratamiento combinado que recibía tanto 24,25(OH)₂D₃ como 1-alfa-(OH)D₃. En 41 pacientes, dos biopsias óseas, la primera previa al ensayo y la segunda al final del mismo, separadas aproximadamente por doce meses, resultaron adecuadas para el análisis histomorfométrico. Hubo 19 pacientes en el grupo control y 22 en el grupo de tratamiento combinado. No se registraron diferencias entre el grupo control y el de tratamiento combinado en los niveles séricos de 25(OH)D₃ y en los de 24,25(OH)₂D₃. Los niveles de 24,25(OH)₂D₃ se mantuvieron por debajo de lo normal en el grupo control, pero aumentaron notablemente en el grupo de tratamiento combinado. Se compararon las diferencias entre la primera y segunda biopsia en el grupo control y el de tratamiento combinado. Se observó una disminución dramática de la superficie erosionada en el tratamiento combinado, pero no en el grupo control, con una diferencia significativa para esta modificación entre los dos grupos ($p < 0,01$). Se observó una disminución significativa del número de osteoclastos en el grupo de tratamiento combinado, no así en el grupo control, siendo esta diferencia entre grupos significativa ($p < 0,05$). Del mismo modo, se registró una disminución significativa (-15,8 %) en la superficie de mineralización en el grupo de tratamiento combinado, pero no en el grupo control, siendo significativa la diferencia entre grupos para esta modificación ($p < 0,01$). Se registró un aumento del volumen óseo en el grupo control, pero no en el grupo de tratamiento combinado, con el resultado de una diferencia significativa entre los dos grupos para este punto ($p < 0,01$).

Los anteriores resultados demostraron claramente que la administración combinada de 24,25(OH)₂D₃ con 1-alfa-(OH)D₃ producía una mejoría dramática en la enfermedad ósea hiperparatiroidea⁴⁵. La 24,25(OH)₂D₃ no tuvo efectos secundarios significativos. Estas características únicas ha-

cen de la 24,25(OH)₂D₃ un agente terapéutico importante en el tratamiento de la osteodistrofia urémica cuando se administra en combinación con análogos 1-alfa-hidroxilados de la vitamina D.

Bibliografía

1. Reiss E, Canterbury JH, Canter A: «Circulating PTH in chronic renal failure». *Arch Int Med* 124:417-420, 1969.
2. Popovtzer MM, Massry SG, Coburn JW, Kleeman CR: «The interrelationship between sodium, calcium and magnesium excretion in advanced renal failure». *J Lab & Clin Med* 43:763-771, 1969.
3. Popovtzer MM, Schainuck LI, Massry SG, Kleeman CR: «Divalent ion excretion in chronic kidney disease. Relation to degree of renal insufficiency». *Clin Sci* 38:297-307, 1970.
4. Popovtzer MM, Massry SG, Coburn JW, Koppel M, Drinkard JH, Kleeman CR: «Calcium infusion test in chronic renal failure». *Nephron* 7:400-412, 1970.
5. Llach F, Massry SG: «On the mechanism of secondary hyperparathyroidism in moderate renal insufficiency». *J Clin Endocrinol Metab* 61:601-606, 1985.
6. Wilson L, Feelsenfeld A, Drezner MK: «Altered divalent ion metabolism in early renal failure: role of 24,25(OH)₂D₃». *Kidney Int* 27:565-573, 1983.
7. Portale AA, Booth BE, Halloran BP, Morris RC: «The effect of dietary phosphorus on circulating concentrations of 24,25(OH)₂D₃ and immunoreactive parathyroid hormone in children with moderate renal insufficiency». *J Clin Invest* 73:1580-1589, 1984.
8. Ellis HA, Peart KM: «Azotaemic renal osteodystrophy: A quantitative study on iliac bone». *J Clin Path* 26:83-101, 1973.
9. Roux B, Duriez J: «Renal osteodystrophy». *Dial Transpl* 10:516-520, 1981.
10. Llach F, Felsenfeld A, Coleman M, Pederson J, Rosen R: «Renal osteodystrophy in 131 unselected hemodialysis (HD) patients (PTS)». *Kidney Int* 25:187, 1984.
11. Chan YL, Furlong TJ, Cornish CJ, Posen S: «Dialysis osteodystrophy: A study involving 94 patients». *Medicine* 64:296-309, 1985.
12. Malluche HH, Faugere MC: «Renal osteodystrophy». *Mediquide to Nephrology* 1:1-8, 1986.
13. Salusky IB, Coburn JW, Brill J, Foley J, Slatopolsky E, Fine RN, Goodman WC: «Bone disease in pediatric patients undergoing dialysis with CAPD or CCPD». *Kidney Int* 33:975-982, 1988.
14. Huffer WE, Kuzela D, Popovtzer MM: «Metabolic bone disease in chronic renal failure. I. Dialyzed uremics». *Amer J Pathol* 78:365-385, 1975.
15. Popovtzer MM, Pinggera WF, Hutt MH, Robinette J, Halgrimson CG y Starzl TE: «The effect of sustained normocalcemia on serum levels of parathyroid hormone and renal handling of phosphorus in patients with chronic renal disease». *J Clin Endocrinol* 35:213-218, 1972.
16. Delmez JA, Tindira C, Grooms P, Dusso A, Windus DW, Slatopolsky E: «Parathyroid hormone suppression by intravenous 1,25-Dihydroxyvitamin D». *J Clin Invest* 83:1349-1355, 1989.
17. Yamamoto M, Igarashi T, Muramatsu M, Fukagawa M, Motokra T, Ogata E: «Hypocalcemia increases and hypercalcemia decreases the steady state level of parathyroid hormone messenger RNA in the rat». *J Clin Invest* 83:1053-1056, 1989.
18. Silver J, Naveh-Manly T, Mayer H, Schmelzer HJ, Popovtzer MM: «Regulation by vitamin D metabolites of parathyroid hormone gene transcription *in vivo* in the rat». *J Clin Invest* 78:1296-1301, 1986.
19. Silver J, Naveh-Manly T, Schmelzer H, Mayer H, Popovtzer MM: «Vitamin D metabolites regulate PTH gene transcription *in vivo* in the rat. En Cohn DV, Martin TJ, Meunier PJ (eds.). *Calcium regulation and bone metabolism. Basic and clinical aspects*. Excerpta Medica. Amsterdam, New York, Oxford. Vol. 9, pp. 782-784, 1987.
20. Fukagawa M, Kaname S, Igarashi T, Kurokawa K: «Regulation of PTH messenger RNA levels in parathyroid glands of chronic renal failure in rats». *Kidney Int* 35:392A, 1989.

21. Slatopolsky E, Weerts C, Thielan J, Horst R, Harter H, Martin KJ: «Marked suppression of secondary hyperparathyroidism by intravenous administration of 1,25-Dihydroxycholecalciferol in uremic patients». *J Clin Invest* 74:2136-2143, 1984.
22. Andress DL, Norris KC, Coburn JW, Slatopolsky E, Sherrard DJ: «Intravenous calcitriol in the treatment of refractory osteitis fibrosa of chronic renal failure». *N Engl J Med* 321:274-279, 1989.
23. Napoli JL, Premanik BC, Royal PM, Reinhardt TA, Horst RL: «Intestinal synthesis of 24-keto 1,25-dihydroxyvitamin D₃». *J Biol Chem* 258:2100-2107, 1983.
24. Raisz LG, Trummel CL, Holick MF, Deluca HF: «1-alpha, 25-dihydroxycholecalciferol, a potent stimulator of bone resorption in tissue culture». *Science* 175:768-769, 1972.
25. Bar-Shavit Z, Teitelbaum SL, Rietsma P, Hall A, Peg LE, Trail J, Kahn AJ: «Induction of monocytic differentiation and bone resorption by 1,25-dihydroxyvitamin D₃». *Proc Natl Acad Sci USA* 80:5907-5911, 1983.
26. Pharaoh M, Heersche JNM: «1,25-dihydroxyvitamin D₃ causes an increase in the number of osteoclast-like cat bone marrow cultures». *Calcif Tissue Int* 37:276-281, 1985.
27. McSeehey PMJ, Chambers TJ: «1,25-dihydroxyvitamin D₃ stimulates rat osteoblastic cells to release a soluble factor that increases osteoclastic bone resorption». *J Clin Invest* 80:425-428, 1987.
28. Raisz LG: «Recent advances in bone cell biology: interactions of vitamin D with other local and systemic factors». *Bone & Min*, 9:191-197, 1990.
29. Hock JM, Krea, BE, Raisz LG: «Autoradiographic study of the effect of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on bone matrix synthesis in vitamin D replete rats». *Calcif Tissue Int* 34:347-351, 1982.
30. Raisz LG, Kream BE, Smith MD, Simmons HA: «Comparison of the effects of vitamin D metabolites on collagen synthesis and resorption of fetal rat bone in organ culture». *Calcif Tissue Int* 32:135-138, 1980.
31. Rowe DW, Kream BE: «Regulation of collagen synthesis in fetal rat calvaria by 1,25-dihydroxyvitamin D₃». *J Biol Chem* 257:8009-8015, 1982.
32. Popovtzer MM, Matthey R, Alfrey A, Block M, Beck P, Reeve EB: «Vitamin D deficiency osteomalacia: Healing of the bone disease in the absence of vitamin D with intravenous calcium and phosphorus infusion». En Frame B, Parfitt AM, Duncan H. *Clinical aspects of metabolic bone disease*. Inter Cong Ser. No. 270. Excerpta Medica, Amsterdam, pp. 382-387, 1973.
33. Rubinger D, Moscovitz A, Popovtzer MM, Bemheim J, Bab I, Gazit D: «24,25(OH)₂D₃ in combination with calcitriol reverses osteoclastic hyperactivity in chronic renal failure (CRF): Evidence for a direct effect on the bone». *Kidney Int* 37:451A, 1990.
34. Galus K: «Effects of 1-alpha-hydroxyvitamin D₃ and 24,25-dihydroxyvitamin D₃ on bone remodeling». *Calcif Tissue Int* 31:209-213, 1980.
35. Gordeladze JO, Gautvik KM: «Hydroxycholecalciferols modulate parathyroid hormone and calcitonin sensitive adenylyl cyclase in bone and kidney of rats. A possible physiological role for 24,25-dihydroxyvitamin D₃». *Biochem Pharmacol* 35:899-902, 1986.
36. Mortensen B, Gordeladze JO, Aksnes L, Gautvik KM: «Long term administration of vitamin D₃ metabolites alters PTH-responsive osteoblastic adenylylase in rats». *Calcif Tissue Int* 46:339-345, 1990.
37. Mortensen B, Klem KH, Jablonski G, Haug E, Aarset HP, Gautvik KM, Gordeladze JO: «The permissive role of 24,25(OH)₂D₃ in treatment of renal osteodystrophy». *Calcif Tissue Int* 46:A56, 1990.
38. Okazaki R, Matsumoto T, Akaogi K, Taniguchi N, Kumegawa N, Ogata E: «Effects of 24,25(OH)₂D₃ on the formation of osteoclast-like cells from hemopoietic blast cells». *J Bone Min Res* 5:S83-A37, 1990.
39. Rubinger D, Cojocaru T, Popovtzer MM: «24,25(OH)₂D₃ attenuates the calcemic effect of 1,25(OH)₂D₃ in rats with reduced renal mass». *Proc Soc Exp Biol Med* 186:64-69, 1987.
40. Rubinger D, Moscovitz A, Popovtzer MM, Bab I, Gazit D: «24,25(OH)₂D₃ in combination with 1,25(OH)₂D₃ ameliorates renal osteodystrophy in rats». *Kidney Int* 35:379(A), 1989.
41. Brickman AS, Llach FL, Coburn JW: «Preliminary report of biological actions of 24,25(OH)₂D₃ in normal man and in patients with advanced renal failure». En Norman, Schaefer, Herrath, Grigsleit, Coburn, DeLuca, Mawer, Suda (eds.). *Vitamin D. Basic research and its clinical applications*. Walter de Gruyter, Berlin-New York, pp. 1085-1090, 1979.
42. Peraino BM, Rault R, Greenberg A, Dominguez JH, Wallia R, Houck P, Segre GV, Chent T, Foti FM, Puschett JB: «Spontaneous hypercalcemia in patients undergoing dialysis. Etiologic and therapeutic considerations». *Am J Med* 80:607-615, 1986.
43. Van Diemen-Steenwoorde R, Donckerwolfe RA, Visser WJ, Raymackers JA, Duursma SA: «Treatment of renal osteodystrophy in children with dihydrotachysterol and 24,25-dihydroxyvitamin D₃». *Clin Nephrol* 24:292-299, 1985.
44. Varghese Z, Moorhead JF, Farrington K: «Effects of 24,25-Dihydroxycholecalciferol on intestinal absorption of calcium and phosphate and on parathyroid hormone secretion in chronic renal failure». *Nephron* 60:286-291, 1992.
45. Popovtzer MM: «24,25(OH)₂D₃ (OSTEO-D) combined with 1-alpha(OH)D₃ is an effective therapy for uremic bone disease. Report of the Collaborative Israeli Multicenter Trial». *Calcif Tissue Int* 44:S-86, 1989.