

The Journal of International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine  
eJIFCC, 22/03 2011, <http://www.ifcc.org>

## ESTATUS DE VITAMINA D: OPINION ACTUAL SOBRE LOS NIVELES CRITICOS PARA LA HOMEOSTASIS PLASMATICA DE CALCIO Y HUESO MINERAL

Howard A. Morris

### **Dirección del autor:**

*School of Pharmacy and Medical Sciences, University of South Australia, and Chemical Pathology  
Directorate, SA Pathology Frome Road Adelaide 5000 SA, Australia.*

*E-mail: [howard.morris@health.sa.gov.au](mailto:howard.morris@health.sa.gov.au)*

**Declaración:** Participación en la oficina de relatores para Roche Diagnostics Australia Pty Ltd and Abbott Diagnostics International.

---

### **Traducción:**

**Dr. Fernando Ruiz Cerda**

Jefe de Laboratorio, Centro de Referencia de Salud "Dr. Salvador Allende Gossens"

Servicio Salud Metropolitano Occidente

Av. Teniente Cruz 800, Pudahuel, Santiago de Chile, CP 9020700.

E-mail: [fernando.ruiz@redsalud.gov.cl](mailto:fernando.ruiz@redsalud.gov.cl)

---

## **Resumen**

Actualmente hay un nivel de interés sin precedentes al considerar los amplios efectos beneficiosos de un estatus de vitamina D adecuado, que se traduce en un marcado aumento respecto del requerimiento de tests para laboratorios clínicos. La bien caracterizada vía endocrina del metabolismo y acción de vitamina D es sólo responsable para la vitamina D que regula la homeostasis plasmática de calcio y fosfato. Una gran cantidad de datos confirman que vitamina D ejerce acciones en cada una de las principales células óseas y que estas mismas células son capaces de sintetizar el metabolito activo 1,25-dihidroxitamina D a partir del 25-hidroxitamina D. Tales datos, provenientes de estudios in vitro, modelos animales y fuentes clínicas son consistentes con un paradigma de que el metabolismo local de vitamina D por las células óseas para formar 1,25-dihidroxitamina D y su consecuente acción local dentro de la célula ósea ejerce un efecto anabólico para aumentar el estatus mineral óseo. Los datos revisados aquí proveen mecanismos plausibles tanto para acciones anabólicas y catabólicas de vitamina D sobre el hueso dependiendo de la ingesta de calcio a través de la dieta.

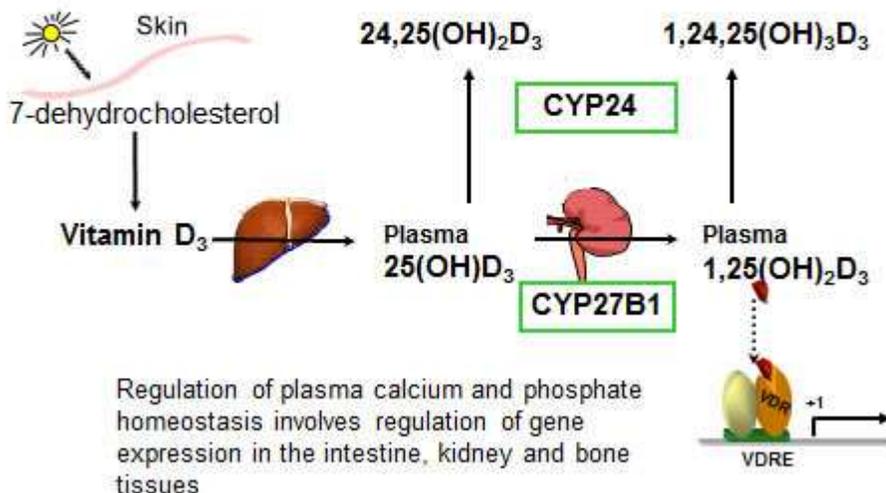
## **Introducción**

Particularmente desde comienzos del siglo veintiuno se han propuesto numerosos efectos beneficiosos de un estatus adecuado de vitamina D sobre un amplio rango de condiciones clínicas. Estas demandas han generado un nivel de interés sin precedentes en el medio médico y del mismo modo presionan traducándose en un gran interés en evaluar el estatus de vitamina D particularmente entre pacientes de médicos familiares o generales. Este crecimiento en los

requerimientos para los niveles de 25-hidroxivitamina D sérica y las consecuentes publicaciones para el laboratorio clínico han estado bien dirigidas recientemente en esta revista (1).

Un factor importante que genera este marcado interés por vitamina D han sido los informes de asociaciones simples entre una enfermedad o condición particular y un bajo estatus de vitamina D. Mucha de esta evidencia es débil y hay numerosas brechas en el conocimiento correspondiente. Aparentemente está claro que un estatus mejorado de vitamina D se puede asociar con muchos atributos de buena salud, relacionándose con actividades realizadas con exposición a la luz solar sin una acción biológica directa de vitamina D. Sin embargo durante el siglo XXI ha habido un florecimiento del conocimiento del metabolismo de vitamina D dentro de un rango de tejidos que incluyen síntesis del metabolito activo 1,25-dihidroxivitamina D (1,25 D) y activación del receptor de vitamina D (VDR) dentro del tejido de síntesis. Tal mecanismo provee ahora mecanismos fisiológicos y moleculares plausibles para diversas actividades y respuestas de tejidos tal como se ha revisado recientemente (2). En este artículo revisaré el conocimiento actual de la acción de vitamina D sobre la homeostasis plasmática de calcio y fósforo y la homeostasis del hueso mineral con particular enfoque sobre las brechas del conocimiento. Datos publicados en el siglo XXI están desafiando el concepto de un único paradigma para las acciones de vitamina D. Un paradigma alternativo que involucra el metabolismo de vitamina D del tejido óseo local con acciones diferentes de aquellas observadas con la fuente endocrina de 1,25 D provee un mecanismo posible para las actividades observadas en estudios de población a partir de ensayos de suplemento de vitamina D controlados randomizados para reducir el riesgo de fracturas en la vejez.

## Las acciones de vitamina D para regular la homeostasis plasmática de fósforo y calcio



La regulación de la homeostasis plasmática de calcio y fosfato involucra la regulación de la expresión genética en el intestino, riñón y tejido óseo.

**Figura 1.** La vía endocrina del metabolismo y actividad de vitamina D para regular la homeostasis plasmática de calcio y fosfato. HA Morris 2011.

La vía endocrina caracterizada del metabolismo y acción de vitamina D se resume en la Figura 1 y se considera ser responsable sólo para la contribución de vitamina D para regular fosfato y calcio plasmático. Están surgiendo nuevos resultados de la interacción entre FGF23 y 1,25 D y los niveles plasmáticos de fosfato, entregando una nueva visión en esta área (3). La identificación de la vía endocrina para la activación de vitamina D en la década de los setenta fue un logro muy importante. El metabolito biológicamente activo 1,25 D en plasma se produce a partir de las hidroxilaciones secuenciales de vitamina D, primero por el hígado para formar 25 D y luego por el riñón para formar 1,25 D (4). El catabolismo de los metabolitos de vitamina D a través de la acción de la 25-hidroxivitamina-24-hidroxilasa (CYP24) también ha sido demostrado ser una vía reguladora esencial para la homeostasis de vitamina D. Bajo condiciones en que esta actividad enzimática es reducida o extraída del suero, las vidas medias de ambos, 25 D y 1,25 D aumentan y contribuyen al desarrollo de hipercalcemia, particularmente siguiendo a la suplementación con vitamina D (5). Recientemente se ha identificado que este mecanismo es responsable de la hipercalcemia idiopática infantil y otros efectos tóxicos de vitamina D (6).

La unión de 1,25 D a su receptor nuclear altamente específico, VDR, modula la actividad transcripcional de los genes de respuesta de vitamina D a través de la unión de los elementos de respuesta a vitamina D (VDRE's) localizados dentro de las regiones promotoras de estos genes. La mayoría de los órganos y tejidos en el organismo expresan el VDR, con un estudio que demostró que el VDR ocupó unas 2776 posiciones genómicas que modulaban la expresión de al menos 229 genes (7). Otro estudio indicó que aproximadamente 913 genes respondieron a VDR en una línea celular de cáncer de células escamosas con el 80 % de los genes siendo regulados y que estos efectos demoraron unas 6 a 12 horas para alcanzar niveles medibles (8). 1,25 D también inicia una rápida respuesta resultante de la activación de proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAP) y otras vías de señalización intracelular (9). Esta última actividad demuestra la rápida activación (dentro de minutos) de varias vías para 1,25 D y también hay datos publicados que implican un receptor específico de membrana para 1,25 D contribuyendo a estas actividades de acción rápida. Se considera que estas vías de acción operan ya sea que 1,25 D surja del plasma como resultado de una síntesis por el riñón y actuando como un agente endocrino o que surja a partir de la síntesis endógena por tejido extrarrenal actuando como un agente autocrino o paracrino.

El mecanismo endocrino para 1,25 D plasmática fue demostrado contribuir a mantener la homeostasis de calcio en la década de los sesenta (10) y continúa dominando el pensamiento en este campo hasta hoy día. La controversia corriente en esta área es ¿cuál es el nivel crítico de 25 D sérica para mantener la homeostasis de calcio en el plasma? Una extensa interacción hormonal opera para mantener regulada la homeostasis de calcio por el nivel de calcio plasmático ionizado que actúa a través de receptores sensibles a calcio. La acción de este receptor modula directamente los niveles de hormona paratiroidea (PTH) y calcitonina las cuales a su vez actúan sobre el riñón, huesos e intestino (4). Bajo calcio aumenta la secreción y síntesis de PTH mientras que alto calcio aumenta la secreción y síntesis de calcitonina. La PTH actúa rápidamente sobre el riñón para estimular la reabsorción renal de calcio a partir del filtrado glomerular y concertadamente con 1,25 D estimula la reabsorción de hueso para aumentar el flujo de calcio

desde los huesos al plasma. 1,25 D en asociación con PTH aumenta el número de osteoclastos mediante un mecanismo indirecto a través de la expresión aumentada de la citokina derivada de osteoblastos, RANKL, la que promueve la diferenciación osteoclástica (11). Se requiere la expresión del gen VDR para que 1,25 D estimule la expresión de RANKL en osteoblastos como aquellos derivados de ratones VDR destruídos que son incapaces de estimular la diferenciación de osteoclastos (12). Alternativamente es importante notar que en la deficiencia de vitamina D o cuando la actividad de vitamina D está disminuida a través de una mutación genética se desarrolla hipocalcemia a pesar de una alta PTH en humanos o roedores (13,14). Estos encuentros sugieren que PTH requiere 1,25 D a fin de aumentar el número de osteoclastos y estimular la reabsorción ósea para normalizar el calcio en el fluido extracelular (ECF).

Cada una de estas actividades opera para restaurar el bajo calcio plasmático ionizado a su nivel homeostático. PTH también actúa sobre el riñón para estimular la transcripción del gen que codifica para la enzima que convierte 25 D a 1,25 D, 25-hidroxivitamina D-1 $\alpha$ -hidroxilasa (CYP27B1) aumentando el nivel en franca hipocalcemia con hiperparatiroidismo secundario en unas 100 veces (15). Es este mecanismo el que puede mantener la 1,25 D sérica en el rango normal o en niveles adecuados para mantener la absorción de calcio intestinal de cara a significativas fallas en la 25 D sérica. Así la evidencia a partir de mujeres postmenopáusicas con varios niveles de 25 D sérica considerados estar en el rango depletado (ie 40 nmol/L o menor) indica que el calcio sanguíneo ionizado, los niveles séricos de 1,25 D y la absorción de radiocalcio intestinal no fallan significativamente hasta que la 25 D sérica está bajo 20 nmol/L (16). Estos datos sugieren que el nivel crítico de 25 D sérica para mantener las acciones endocrinas de 1,25 D para mantener la homeostasis de calcio plasmático es 20 nmol/L o mayor.

## **Las acciones de vitamina D para regular la homeostasis mineral ósea**

El nivel de hueso mineral en cualquier momento es el resultado de al menos dos acciones celulares opuestas, la formación de hueso por osteoblastos y la reabsorción de hueso por los osteoclastos. El raquitismo en niños (u osteomalacia en adultos cuando el crecimiento óseo ha cesado) es la enfermedad índice para la deficiencia de vitamina D. Surge a partir de un defecto, o más exactamente un retraso en la mineralización. Por lo tanto ha sido largamente considerada una acción de la vitamina D para el aumento de la mineralización. Actualmente este concepto ha sido muy controversial y permanece como el tema de mucho debate. Se han generado fuertes datos a partir de enfermedades humanas y modelos en roedores para indicar que la deficiencia dietética o ablación genética de la actividad de vitamina D resulta en hipocalcemia, hipofosfatemia, hiperparatiroidismo y raquitismo (17). La corrección de la hipocalcemia, hipofosfatemia e hiperparatiroidismo secundario corrige el raquitismo. Tal resultado a menudo es acompañado por un comentario que el hueso ahora es “normal” (17). Se ha concluido por lo tanto que la acción de vitamina D sobre el mineral óseo puede ser explicada completamente por sus acciones para mantener la homeostasis plasmática del calcio y fosfato sin requerimientos para acciones directas de vitamina D sobre las células óseas para mantener o aumentar el estatus mineral óseo. La acción calcémica de 1,25 D particularmente en conjunto con PTH para estimular la osteoclastogénesis y reabsorción ósea como se discutió más arriba es una acción endocrina directa de 1,25 D sobre la célula ósea para reducir el mineral óseo a fin de mantener los niveles de calcio plasmático.

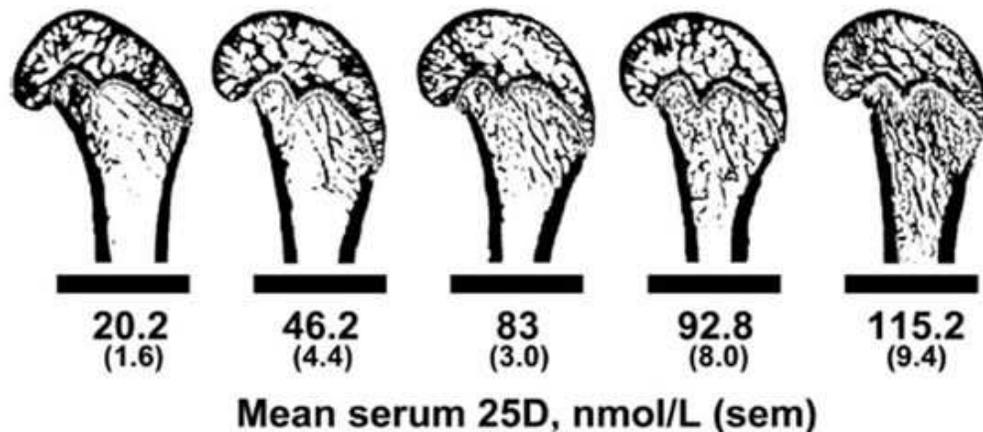
En contraste con estos hallazgos un gran número de datos han sido y continúan siendo informados respecto a la expresión de VDR por cada uno de los principales tipos de células óseas sobre los

efectos de 1,25 D in vitro para inhibir la proliferación de células tipo osteoblastos y para estimular la maduración de osteoblastos y la mineralización (18). Los osteoblastos así como los osteocitos y osteoclastos expresan el VDR y los genes para las enzimas CYP27B1 y CYP24 así como una cantidad de genes de respuesta a vitamina D asociados con la mineralización en osteoblastos incluyendo colágeno tipo I, fosfatasa alcalina y osteocalcina y otros genes necesarios para la maduración de osteoblastos y osteocitos en contra de un número mucho mayor de proteínas. Además hay evidencia que incluye modelos clínicos y murinos sugiriendo que vitamina D probablemente ejerza actividades directamente sobre células óseas para mejorar o mantener el estatus mineral del hueso (19). Estudios clínicos desde comienzos de los años 80 han informado que ocurre un riesgo aumentado de fracturas de cadera entre los viejos con niveles medios de 25 D sérica de unos 40 nmol/L (20), un nivel considerado ahora como adecuado para mantener la homeostasis plasmática de calcio. Además, estudios poblacionales realizados en Estados Unidos demostraron que la densidad mineral del hueso aumenta con los aumentos de niveles séricos de 25 D alcanzando un plateau con niveles de 25 D sérica de aproximadamente 75 nmol/L (21). Datos a partir de ensayos clínicos randomizados de suplemento de vitamina D e incidencia de fractura indican que la eficacia antifractura en la cadera u otro sitio no vertebral no se logra hasta que no se alcanza el nivel sérico de 25 D de 75 nmol/L (22).

Estudios en modelos animales han hecho surgir interesantes datos confirmatorios para una acción anabólica directa de vitamina D sobre hueso. Modelos en ratones en los que la actividad de vitamina D ha sido suprimida ya sea por bloqueo de los genes para el VDR o la enzima CYP27B1, como se ha establecido previamente desarrollaron raquitismo cuando se alimentaron con dieta normal de calcio. Cuando los niveles de calcio y fosfato de la dieta están lo suficientemente aumentados para normalizar los niveles plasmáticos de calcio y fosfato, el fenotipo del raquitismo es superado, y como mencionado antes, muchos autores han descrito el hueso como “normal” (17). Un grupo de investigación ha extendido la alimentación de la dieta de “rescate” a estos ratones modificados genéticamente por un período mayor (16 semanas en lugar de 10) (23). Sobre un cuidadoso examen de sus esqueletos confirmaron que el raquitismo se había superado. Sin embargo estos ratones tenían menores niveles de hueso mineralizado normal que el de los ratones de tipo silvestre; es decir, tenían osteoporosis. A medida que los ratones con los genes bloqueados tuvieron menores células de médula ósea osteogénicas no hubo diferencias en el número de osteoclastos en los huesos de los ratones de tipo silvestre y los genes bloqueados. Así, estos datos apoyan el concepto que la actividad de vitamina D es necesaria para el nivel mineral óseo normal al menos en ratones adultos debido a la producción de un número óptimo de células formadoras de osteoblastos y actividad osteoblástica.

Datos independientes adicionales a partir de otros modelos en roedores apoyan este concepto que la actividad de vitamina D dentro de las células osteoblásticas maduras ejercen una acción anabólica sobre el tejido óseo. La línea de ratones transgénicos OSVDR fue preparada para sobre expresar el gen humano para VDR solo en osteoblastos y algunos osteocitos maduros utilizando la región promotora del gen de osteocalcina humano para regular la expresión de VDR transgénico (24). Los ratones OSVDR adultos demuestran un fuerte fenotipo óseo comparados con los ratones del tipo silvestre con un aumento del volumen óseo tanto cortical como trabecular de un 15 % en una cantidad de sitios en el esqueleto. El volumen óseo aumentado es un resultado tanto de un aumento en la formación ósea como de una reabsorción ósea disminuida (24). Recientemente se ha preparado una línea de ratones transgénicos distinta pero similar (ratones OSC) en la que el gen humano CYP27B1 se expresa bajo el control del promotor osteocalcina humano. Estos ratones OSC demuestran una síntesis aumentada de 1,25 D a partir de 25 D sólo en osteoblastos y algunos

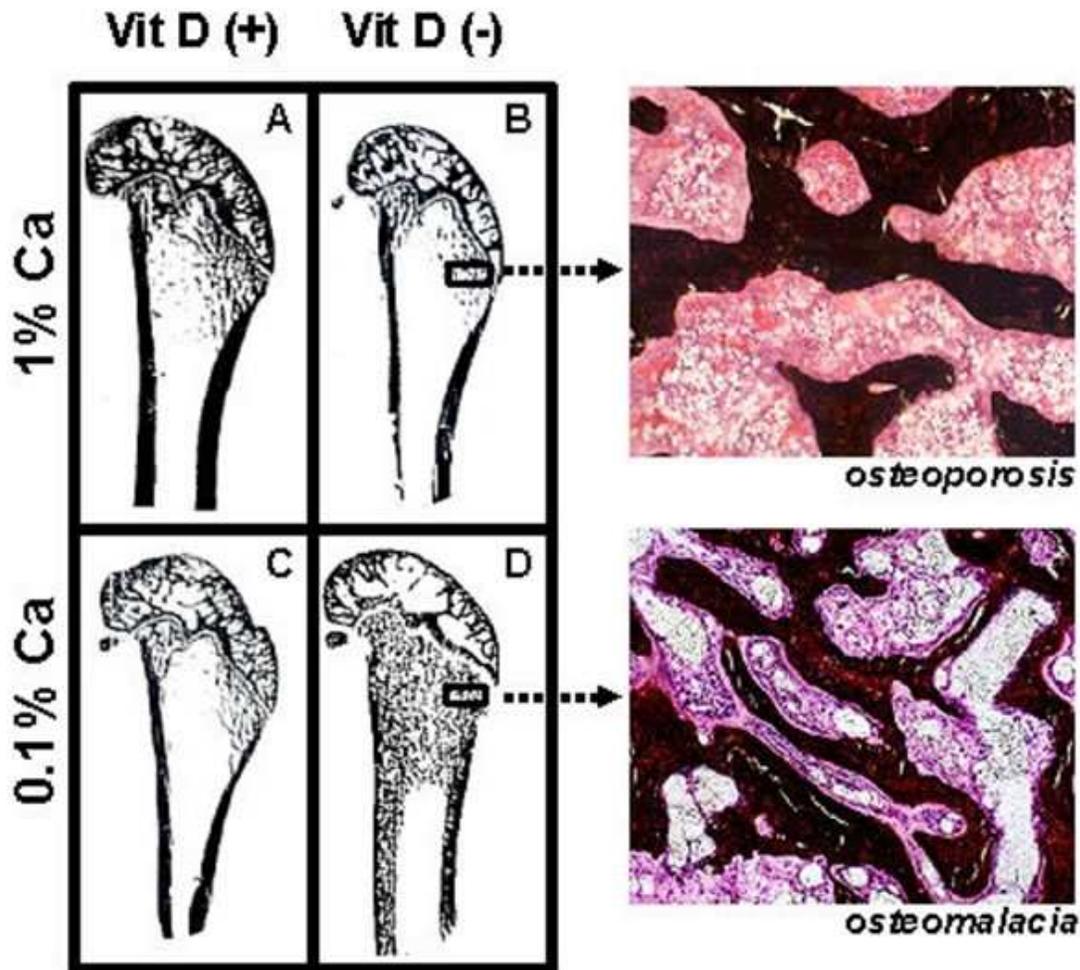
osteocitos maduros. Estos ratones demuestran volumen óseo trabecular aumentado en hembras a las 20 semanas de edad (25). Estos últimos resultados sólo se han publicado como resúmenes y por ahora sólo son preliminares. Se requieren datos posteriores sobre las actividades de las células óseas.



**Figura 2.** Cortes representativos del fémur distal teñidos con von-Kossa a partir de ratas de 30 semanas mantenidas con niveles séricos de 25 D entre 20,2 a 115,2 nmol/L por 20 semanas. Note que el hueso trabecular metafíseo distal (volumen óseo como una razón del volumen total (BV/TV)) está aumentado significativamente según el aumento del nivel de 25 D (reproducido a partir de John Wiley & Sons 2008 de la referencia 22 con permiso de los editores John Wiley & Sons, Inc.).

Otra línea de investigación ha utilizado estudios dietéticos en modelos de roedores para demostrar que con niveles séricos de 25 D entre 20 y 80 nmol/L, el volumen óseo trabecular es reducido a los tres meses como resultado de una reabsorción ósea aumentada a partir de una osteoclastogénesis incrementada debido a la aumentada expresión ósea de la citokina osteoclastogénica clave, RANKL (Figura 2), (26). A niveles de 25 D bajo 20 nmol/L y calcio de la dieta de 4 %, se observó osteomalacia. Con valores sobre 20 nmol/L el tiempo de mineralización es normal, lo que por lo tanto excluye la osteomalacia. En estos animales sólo fue el nivel sérico de 25 D y no el de 1,25 D o PTH, el que se correlacionó significativamente con el volumen óseo trabecular, osteoclastos de superficie o niveles de mRNA de RANKL óseo.

## Regulación de la síntesis ósea de 1,25 D



**Figura 3.** Cortes longitudinales (teñidos con von-Kossa) de fémures distales de ratas viejas Sprague-Dawley de 9 meses siguiendo 3 meses de alimentación ya sea con A. 1 % calcio/20 IU vitamina D3/día; B. 1 % calcio/0 IU vitamina D3/día; C. 0,1 % calcio/20 IU vitamina D3/día; D. 0,1 % calcio/0 IU vitamina D3/día. Hueso altamente trabecularizado con osteomalacia (D) es evidente en contraste a un volumen óseo trabecular reducido (B & C) comparado con A. ©HA Morris 2010.

Todos estos datos son consistentes con un modelo que el metabolismo local de vitamina D por la célula ósea para formar 1,25 D y su acción local dentro de la célula ósea puede aumentar el estatus mineral óseo (27). Así, ¿qué factores regulan el metabolismo de vitamina D en tejido óseo? Actualmente esta es un área de intensa investigación. A diferencia del riñón, PTH no aumenta la síntesis de 1,25 D en hueso (28) y hay evidencia directa que el tratamiento de células óseas con PTH no activa la región promotora del gen humano para CYP27B1 (29). De hecho altos niveles de PTH están asociados con la expresión de una síntesis disminuida del gen CYP27B1 en tejido óseo

(28). Quizás el hallazgo más importante en esta área es que la ingesta aumentada del calcio de la dieta aumenta la expresión del gen CYP27B1 en hueso al triple y reduce la expresión de este gen en el riñón (30). Ciertamente estudios en roedores han encontrado que un estatus óseo óptimo es dependiente de un adecuado nivel de vitamina D y calcio en la dieta en lugar de uno solo (21). Cuando se alimentan ratas ya sea con adecuado nivel de vitamina D pero bajo calcio en la dieta o viceversa desarrollan osteoporosis y cuando se alimentan con ambos niveles bajos en la dieta, vitamina D y calcio, desarrollan osteomalacia (Figura 3).

## Discusión

Los datos revisados aquí proveen un modelo plausible tanto para las acciones catabólicas y anabólicas de vitamina D sobre el hueso dependiendo de la ingesta de calcio en la dieta. Con ya sea una inadecuada ingesta de calcio en la dieta o bajo estatus de vitamina D con una ingesta marginal de calcio en la dieta, una actividad aumentada de los mecanismos homeostáticos de fosfato y calcio plasmáticos, incluyendo la actividad endocrina de vitamina D, son requeridos para mantener los niveles de calcio y fosfato del plasma dentro de niveles fisiológicos. Esto involucra una actividad aumentada de PTH cuando los niveles de 25 D plasmática caen bajo 60 nmol/L (32) presumiblemente surgiendo a partir de la estimulación del receptor de la glándula paratiroides sensible a calcio como resultado de una ligera caída en el nivel de calcio plasmático ionizado. Sin embargo también es posible que se produzca una secreción de PTH aumentada como resultado directo de la caída de 25 D sérica (33). La PTH aumentada actúa para elevar el nivel de la enzima CYP27B1 en el riñón con la actividad de enzima aumentada permitiendo una síntesis renal continua de 1,25 D y la mantención de niveles de 1,25 D sérica mientras que el nivel de 25 D sérica cae a niveles de depleción (niveles bajo 60 nmol/L). La mantención sérica de 1,25 D optimiza la absorción intestinal de calcio y fosfato y la interacción entre PTH y 1,25 D sérica estimula la osteoclastogénesis y reabsorción ósea aumentando el flujo de calcio y fosfato en el compartimento plasmático. Este mecanismo es capaz de mantener los niveles de calcio y fosfato plasmático hasta que los niveles séricos de 25 D caen bajo 20 nmol/L, tiempo en el cual los niveles de sustrato están muy bajos para mantener los niveles séricos de 1,25 D. Consecuentemente la absorción de calcio intestinal disminuye coincidente con el desarrollo de hipocalcemia (16). Quizás más importante es que tanto PTH como 1,25 D sérica se requieren para una adecuada reabsorción ósea porque el desarrollo de hipocalcemia indica que aunque los niveles de PTH estén muy altos hay un inadecuado flujo de calcio desde el compartimento óseo para mantener la normocalcemia en el compartimento plasmático (15). Bajo estas condiciones se desarrolla la enfermedad ósea de raquitismo/osteomalacia.

Cuando las ingestas de calcio por la dieta son adecuadas para reunir todas las demandas de calcio de la economía los datos revisados antes sugieren que en conjunto con un estatus adecuado de vitamina D (eg, niveles séricos de 25 D mayores de 75 nmol/L), niveles aumentados de la actividad de la enzima CYP27B1 aseguran mayor síntesis de 1,25 D por la célula ósea asociada con un reducido nivel de PTH circulante. Estas condiciones suprimen la expresión de RANKL, osteoclastogénesis y reabsorción ósea. Hay datos para sugerir que la formación variable de hueso también está aumentada pero está poco claro si tales cambios son efectos directos de 1,25 D sobre osteoblastos o efectos indirectos de la actividad de osteoclastos suprimida (26).

Estos últimos hallazgos proveen una luz adicional acerca de la delicada relación entre la homeostasis de calcio plasmático, homeostasis de hueso mineral y las actividades de vitamina D

que involucran ya sea actividades óseas endocrina o autocrina/paracrina. Estos hallazgos también proveen un mecanismo plausible para al menos dos niveles críticos para 25 D sérica, uno para la homeostasis de calcio y un segundo para la homeostasis del hueso mineral. Para mantener la homeostasis plasmática de calcio, un nivel de 25 D sérica de 20 nmol/L o mayor parece ser suficiente para proveer sustrato adecuado para el nivel renal de la enzima CYP27B1. Este nivel menor es adecuado porque el nivel de enzima renal CYP27B1 está aumentado por aumento de los niveles de PTH cuando los niveles de 25 D séricos caen bajo 60 nmol/L (32). En contraste los niveles óseo de enzima CYP27B1 no están aumentados por PTH y por lo tanto niveles mayores de 25 D sérica como sustrato (ie 75 nmol/L de 25 D sérica o mayor) son requeridos para que la célula ósea produzca suficiente 1,25 D del tejido óseo para suprimir la osteoclastogénesis. Además también se requiere una adecuada ingesta de calcio en la dieta para aumentar los niveles óseos de enzima CYP27B1 aún a estos mayores niveles de 25 D sérica.

## Reconocimiento

Este manuscrito fue preparado, así como el trabajo del autor informado aquí, con el apoyo del proyecto financiado por el National Health and Medical Research Council of Australia.

## Referencias

1. Chin A. Opinion letter: Vitamin D – analyte of the millennium. *eJIFCC* 2011; 22 (1).
2. Morris HA, Anderson PH. Editorial Vitamin D metabolism and biological activities. *Molec Cell Endocrinol* 2011 June 25 (ePub ahead of print).
3. Hori M, Shimizu Y, Fukimoto S. Minireview: Fibroblast growth factor 23 in phosphate homeostasis and bone metabolism. *Endocrinology* 2011; 152: 4-10.
4. DeLuca HF, Schnoes HK. Metabolism and action of vitamin D. *Annu Rev Biochem* 1976; 45: 631-666.
5. Masuda S, Byford V, Arabian A, Sakai Y, DeMay MB, St-Arnaud R, Jones G. Altered pharmacokinetics of 1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> in the blood and tissues of the 25-hydroxyvitamin D-24-hydroxylase (Cyp24a1) null mouse. *Endocrinology* 2005; 146: 825-834.
6. Schlingmann KP, Kaufmann M, Weber S, Irwin A, Goos C, John U, Misselwitz J, Klaus G, Kuwertz-Broking E, Fehrenbach H, Wingen AM, Guran T, Hoendrop JG, Bindels RJ, Prosser DE, Jones G, Konrad M. Mutations in CYP24A1 and Idiopathic Infantile Hypercalcemia. *New Eng J Med* 2011 June 15 (ePub ahead of print)
7. Ramagopalan S, Heger A, Berlanga A, Maugeri N, Lincoln M, Burrell A, Handunnetthi L, Handel A, Disanto G, Orton S-M, Watson C, Morahan J, Giovannoni G, Ebers G, Knight J. A ChIP-seq defined genome-wide map of Vitamin D receptor binding: Associations with disease and evolution. *Genome Res* 20: 1352-1360, 2010.
8. Wang TT, Tavera-Mendoza LE, Laperriere D, Libby E, Macload NB, Nagai Y, Bourdeau V, Konstorium A, Lallemand B, Zhang R, Mader S, White JH. Large-scale in silico and microarray-based identification of direct 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> target genes. *Mol Endocrinol* 2005; 19: 2685-2695.
9. Boland RL. VDR activation of intracellular signalling pathways in skeletal muscle. *Mol Cell Endocrinol* 2011, June 1 ePub ahead of print.

10. DeLuca H. Mechanism of action and metabolic fate of vitamin D. *Vit Horm* 1967; 25: 315-367.
11. Suda T, Udagawa N, Nakamura I, Miyaura C, Takahashi N. Modulation of osteoclast differentiation by local factors. *Bone* 1995;17(2 Suppl): 87S-91S.
12. Takeda S, Yoshizawa T, Nagai Y, Yamato H, Fukumoto S, Sekine K, Kato S, Matsumoto T, Fujita T. Stimulation of osteoclast formation by 1,25-dihydroxyvitamin D requires its binding to vitamin D receptor (VDR) in osteoblastic cells: studies using VDR knockout mice. *Endocrinology* 1999; 140: 1005-8.
13. Erben RG, Soegiarto DW, Weber K, Zeitz U, Lieberherr M, Gniadecki R, Moller G, Adamski J, Balling R. Deletion of deoxyribonucleic acid binding domain of the vitamin D receptor abrogates genomic and nongenomic functions of vitamin D. *Mol Endocrinol* 2002; 16: 1524-37.
14. Peacock M. Osteomalacia and rickets. In: *Metabolic Bone and Stone Disease*, (eds.) Nordin BEC, Need AG, Morris HA 3rd ed. Churchill Livingstone, London,1983: 83-118.
15. Hendrix I, Anderson PH, Omdahl JL, May BK, Morris HA. Response of the 5'-flanking region of the human 25-hydroxyvitamin D 1 $\alpha$ -hydroxylase gene to physiological stimuli using a transgenic model. *J Mol Endocrinol* 2005; 34: 237-245.
16. Need AG, O'Loughlin PD, Morris HA, Coates PS, Horowitz M, Nordin BEC. Vitamin D metabolites and calcium absorption in severe vitamin D deficiency. *J Bone Miner Res* 2008; 23: 1859-1863.
17. Amling M, Priemel M, Holzmann T, Chapin K, Rueger JM, Baron R, DeMay MB. Rescue of the skeletal phenotype of vitamin D receptor-ablated mice in the setting of normal mineral ion homeostasis: formal histomorphometric and biomechanical analyses. *Endocrinology* 1999; 140: 4982-4987.
18. Owen TA, Aronow MS, Barone LM, Bettencourt B, Stein GS, Lian JB. Pleiotropic effects of vitamin D on osteoblast gene expression are related to the proliferative and differentiated state of the bone cell phenotype: dependency upon basal levels of gene expression, duration of exposure, and bone matrix competency in normal rat osteoblast cultures. *Endocrinology* 1991; 128: 1496-1504.
19. Anderson PH, Atkins GJ. The skeleton as an intracrine organ for vitamin D metabolism. *Mol Aspects Med* 2008; 29: 397-406.
20. Morris HA, Morrison GW, Burr M, Thomas DW, Nordin BEC. Vitamin D and femoral neck fractures in elderly South Australian women. *Med J Aust* 1984; 140: 519-521.
21. Bischoff-Ferrari HA, Kiel DP, Dawson-Hughes B, Orav JE, Li R, Spiegelman D, Dietrich T, Willet WC. Dietary calcium and serum 25-hydroxyvitamin D status in relation to BMD among US adults. *J Bone Miner res* 2009; 24: 935-942.
22. Bischoff-Ferrari HA, Willet WC, Wong JB, Stuck AE, Staehelin HB, Orav EJ, Thoma A, Kiel DP, Henschkowski J. Prevention of non-vertebral fractures with oral vitamin D and dose dependency: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Arch Intern Med* 2009; 169: 551-561.
23. Panda DK, Miao D, Bolivar I, Li J, Huo R, Henty GN, Goltzman D. Inactivation of the 25-hydroxyvitamin D 1 $\alpha$ -hydroxylase and vitamin D receptor demonstrates independent and interdependent effects of calcium and vitamin D on skeletal and mineral homeostasis. *J Biol Chem* 2004; 279: 16754-16766.
24. Gardiner EM, Baldock PA, Thomas GP, Sims NA, Henderson NK, Hollis B, White CP, Sunn KL, Morrison NA, Walsh WR, Eisman JA. Increased formation and decreased resorption of bone in mice with elevated vitamin D receptor in mature cells of the osteoblastic lineage. *FASEB J*. 2000; 14: 1908-1916.

25. Morris HA, Turner AG, Sawyer RK, O'Loughlin PD, Anderson PH. Increased trabecular bone in the bone-specific CYP27B1 transgenic mouse. *Bone* 2011; 48: S78-S78.
26. Anderson PH, Sawyer RK, Moore AJ, May BK, O'Loughlin PD, Morris HA. Vitamin D depletion induces RANKL-mediated osteoclastogenesis and bone loss in a rodent model. *J Bone Miner Res* 2008; 23: 1789-97.
27. Morris HA, Anderson PH. Autocrine and paracrine actions of vitamin D. *Clin Biochem Rev* 2010; 31: 129-138.
28. Anderson PH, O'Loughlin PD, May BK, Morris HA. Modulation of CYP27B1 and CYP24 mRNA expression in bone is independent of circulating 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> levels. *Bone* 2005; 36: 654-66.
29. Turner AG, Dwivedi PP, Anderson PH, May BK, Morris HA. Regulation of the 5'-flanking region of the human CYP27B1 gene in osteoblast cells. *Molec Cell Endocrinol* 2009; 311: 55-61.
30. Anderson PH, Iida S, Tyson JH, Turner AG, Morris HA. Bone CYP27B1 gene expression is increased with high dietary calcium in mineralising osteoblasts. *J Steroid Biochem Molec Biol* 2010; 121:71-75.
31. Morris HA, O'Loughlin PD, Anderson PH. Experimental evidence for the effects of calcium and vitamin D on bone: A review. *Nutrients* 2010; 2: 1026-1035. doi:10.3390/nu2091026
32. Jesudason D, Need AG, Horowitz M, O'Loughlin PD, Morris HA, Nordin BEC. Relationship between serum 25 hydroxyvitamin D and bone resorption markers in vitamin D insufficiency. *Bone* 2002; 31: 626-630.
33. Ritter CS, Armbrecht HJ, Slatopolsky E, Brown AJ. 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> suppresses PTH synthesis and secretion by bovine parathyroid cells. *Kidney Int* 2006; 70: 654-659.