

## Prophylaxie et thérapeutique de l'hypocalcémie vitulaire par les isomères ou les métabolites de la vitamine D.

### II. Le 1 $\alpha$ -hydroxycholécalférol

par J.-P. BARLET

Station de Physiopathologie de la Nutrition, I.N.R.A.  
Theix, Saint-Genès-Champagnelle 63110 Beaumont

---

**Summary.** *Prophylaxis of parturient hypocalcaemia in cows with 1  $\alpha$ -Hydroxycholecalciferol.*

1  $\alpha$ -hydroxycholecalciferol (1  $\alpha$ -OHCC) is a synthetic analogue to 1,25-dihydroxycholecalciferol, the biologically active metabolite of vitamine D<sub>3</sub>. 1  $\alpha$ -OHCC is known to strongly stimulate intestinal calcium absorption and bone resorption. We have studied its effects on plasma calcium and phosphate levels in lactating cows, and its potential value as a prophylactic agent of parturient hypocalcaemia.

1  $\alpha$ -OHCC (1  $\mu$ g/kg b.w. or 1.5  $\mu$ g/kg b.w.) given IV, IM or SC to 21 lactating *Holstein*  $\times$  *Friesian* cows (6 groups of 3-5 animals) induced a significant rise in plasma calcium and phosphate, occurring from the 6th to the 120th hour following the injection. The route of injection and the dose of 1  $\alpha$ -OHCC used had only a very slight effect on the magnitude and the duration of the induced hypercalcaemia and hyperphosphataemia. During the 12 days following the injection no significant change in dry matter intake and daily milk production was observed between treated and control cows.

An injection of 1  $\alpha$ -OHCC given just at the time of calving to 19 *Holstein*  $\times$  *Friesian* (1  $\mu$ g/kg b.w., IM, 9 animals ; 1.5  $\mu$ g/kg b.w., 10 animals) and to 3 parturient *Jersey* cows (1  $\mu$ g/kg b.w., IV) inhibited significantly the fall in plasma calcium and phosphate observed in the hours following calving. No treated animal showed clinical symptoms of parturient hypocalcaemia, while these symptoms (confirmed by measurement of plasma calcium and phosphate levels) occurred in 5 of the 15 control animals.

These results indicate that 1  $\alpha$ -OHCC, given IM just at the time of calving, could be a useful agent in the prophylaxis of parturient hypocalcaemia.

---

Actuellement, le 1,25 dihydroxycholécalférol (1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>), métabolite biologiquement actif de la vitamine D<sub>3</sub>, est considéré comme une véritable hormone stéroïde dont la synthèse rénale est réglée par un mécanisme complexe faisant intervenir la calcémie, la phosphatémie et la parathormone (De Luca, 1973 ; Holick et De Luca, 1974 ; Hughes *et al.*, 1975). Il semblait logique de penser que ce métabolite, qui stimule rapidement et intensément l'absorption calcique intestinale et la résorption osseuse (De Luca, 1974) pourrait être utilisé dans la prophylaxie et la thérapeutique de l'hypocalcémie vitulaire. Malheureusement la synthèse chimique de ce métabolite

est très difficile et très coûteuse (De Luca, 1974). Par contre, le 1  $\alpha$ -hydroxycholécalférol (1  $\alpha$ -OHCC), dérivé synthétique aisément obtenu à partir du cholestérol, et dont la structure ne diffère de celle du 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> que par l'absence d'un radical OH en position 25 (Holick *et al.*, 1973) possède une activité biologique identique à celle du 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> chez le poulet (Haussler *et al.*, 1973) et environ égale à la moitié de celle du métabolite naturel chez le rat (Holick *et al.*, 1975). Comme le 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>, le 1  $\alpha$ -OHCC stimule la résorption osseuse (Holick *et al.*, 1973) et l'absorption calcique intestinale (Brickman *et al.*, 1976). Il a déjà été démontré que, chez les bovins, le 1  $\alpha$ -OHCC administré par voie IV, à des doses variant de 1,72 à 14,7  $\mu$ g/kg, élève rapidement et intensément la calcémie et la phosphatémie (Barlet, 1975). A notre connaissance, les auteurs ayant utilisé le 1  $\alpha$ -OHCC chez la vache parturiente ont procédé à des injections répétées pendant les jours précédant la mise-bas (Marquardt *et al.*, 1975). D'autres ont effectué une injection IM dans les heures suivant celle-ci, sans observer en détail l'évolution de la calcémie et de la phosphatémie dans les heures suivant l'injection, et sans préciser le pourcentage de cas cliniques d'hypocalcémie survenant chez les témoins (Sansom *et al.*, 1976). Il semblait donc important d'étudier le délai d'apparition et la durée de l'hypercalcémie et de l'hyperphosphatémie induite par une injection unique de 1  $\alpha$ -OHCC, administrée par voie IV, IM ou SC, et d'essayer de prévenir l'apparition de l'hypocalcémie vitulaire par une injection de 1  $\alpha$ -OHCC effectuée au moment même de la mise-bas. Ainsi éviterait-on toute prédiction, toujours hasardeuse, concernant le moment exact de celle-ci. C'est ce que nous avons fait dans le travail rapporté ici.

## Matériel et méthodes.

Nous avons réalisé deux expériences successives. Au cours de l'expérience I, nous avons observé l'influence de 2 doses (1 et 1,5  $\mu$ g/kg) de 1  $\alpha$ -OHCC (solution de 100  $\mu$ g/ml, fournie par les Laboratoires Léo) et du mode d'administration (IV, IM, SC) sur la calcémie, la phosphatémie et la magnésémie de vaches *Holstein*  $\times$  *Frisonnes* en 2<sup>e</sup> ou 3<sup>e</sup> lactation, utilisées entre le 21<sup>e</sup> et le 33<sup>e</sup> jour suivant la mise-bas. La répartition des animaux est indiquée au tableau 1. La production journalière (lait à 4 p. 100 MG) et les quantités consommées (matière sèche totale ingérée) étaient mesurées quotidiennement sur chaque animal pendant les 12 jours suivant l'injection.

Dans l'expérience II, nous avons essayé de voir si une injection de 1  $\alpha$ -OHCC administrée à des vaches *Holstein*  $\times$  *Frisonnes* ou *Jersiaises*, en 4<sup>e</sup> lactation et au-delà, pouvait inhiber l'hypocalcémie et l'hypophosphatémie plus ou moins accentuée survenant dans les heures suivant la parturition, et protéger ainsi les animaux contre l'apparition du syndrome vitulaire. Les traitements effectués et la répartition des animaux sont indiqués au tableau 1. Les témoins, choisis au hasard en fonction de l'ordre chronologique des mises-bas, recevaient de la même façon que les traités, le même volume de solvant. Chaque injection était effectuée dans les 10 mn suivant la naissance du veau.

Les animaux *Jersiais* recevaient un foin de graminées de bonne qualité et un concentré à base de céréales, apportant quotidiennement à chaque vache environ 50 g de calcium, 60 g de phosphore minéral et 40 g de magnésium. La ration journa-

lière distribuée aux *Holstein* × *Frisonnes* (ensilage de maïs, concentré à base de luzerne déshydratée et céréales, tourteau et complément minéral) fournissait à chaque animal 80 g de calcium, 80 g de phosphore minéral et 60 g de magnésium.

TABLEAU 1  
Répartition des animaux et traitements effectués

Expérience I : Vaches <i>Holstein</i> × <i>Frisonnes</i> en lactation							
Dose injectée.....	1 µg/kg			1,5 µg/kg			Témoins
Voie d'injection.....	IV	IM	SC	IV	IM	SC	*
Nombre d'animaux.....	5	4	3	3	3	3	4
Poids des animaux (kg)							
( $\bar{x} \pm \sigma/\sqrt{N}$ ).....	582 ± 34	525 ± 23	528 ± 38	561 ± 10	506 ± 21	599 ± 48	570 ± 30
M. S. consommée (kg/i)							
( $\bar{x} \pm \sigma/\sqrt{N}$ ).....	16,5 ± 1,0	15,3 ± 1,0	13,7 ± 0,3	14,3 ± 0,3	13,9 ± 0,8	15,8 ± 1,3	17,6 ± 2,0
Production laitière (lait 4 p. 100 M. G., kg/i)...							
( $\bar{x} \pm \sigma/\sqrt{N}$ ).....	27,5 ± 1,9	26,3 ± 3,3	25,7 ± 4,2	26,0 ± 2,0	20,5 ± 1,1	25,3 ± 2,7	24,9 ± 1,7
Expérience II : Vaches parturientes							
Race.....	Holstein × Frisonne			Jersiaise			
Dose injectée.....	1 µg/kg	1,5 µg/kg	Témoins	1 µg/kg	Témoins		
Voie d'injection.....	I. M.	I. M.	I. M.	I. V.	I. V.		
Nombre d'animaux.....	9	10	12	3	3		
Poids des animaux (kg)							
( $\bar{x} \pm \sigma/\sqrt{N}$ ).....	610 ± 31	639 ± 47	624 ± 30	375 ± 17	380 ± 20		
Cas cliniques d'hypocalcémie	0	0	4	0	1		

\* Parmi les 4 témoins de l'expérience I, 1 a reçu le solvant par voie IV, 2 par voie IM, 1 par voie SC.

Chez tous les animaux, les prélèvements de sang étaient effectués à intervalles réguliers, grâce à un cathéter implanté au moins 24 h avant l'injection (expérience I) ou la mise-bas (expérience II). Après centrifugation du sang, le calcium et le magnésium plasmatiques étaient mesurés par spectrophotométrie d'absorption atomique (Perkin-Elmer 303). Le phosphore minéral plasmatique était dosé par colorimétrie à l'autoanalyseur Technicon.

## Résultats.

### *Influence du 1 α-OHCC chez la vache en lactation.*

L'injection de 1 α-OHCC (1 µg/kg, IM) chez 4 vaches en lactation induit une élévation de la calcémie significative ( $P < 0,01$ ) au bout de 24 h, et persistant pendant 120 h. L'injection SC de la même dose de 1 α-OHCC produit une hypercalcémie d'am-

plitude analogue. L'injection IV de 1  $\alpha$ -OHCC (1  $\mu$ g/kg) induit une hypercalcémie significative ( $P < 0,05$ ) dès la 8<sup>e</sup> heure après l'injection. Cependant 120 h après l'injection, la calcémie des animaux ayant reçu le 1  $\alpha$ -OHCC par voie SC est significativement supérieure ( $P < 0,05$ ) à celle des animaux ayant reçu la même dose par voie IV (fig. 1). Pour les 3 lots d'animaux, l'élévation de la phosphatémie est parallèle à celle de la calcémie. Elle devient significative au bout de 24 h et persiste pendant 120 h. La magnésémie des animaux traités est légèrement mais significativement inférieure à celle des témoins entre la 24<sup>e</sup> et la 72<sup>e</sup> heure suivant l'injection.

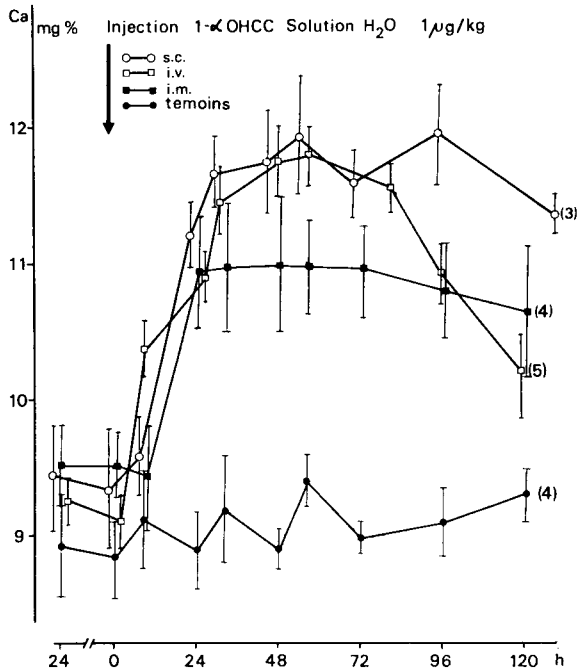


FIG. 1. — Influence d'une injection de 1  $\alpha$ -OHCC sur la calcémie de la vache en lactation ( $\bar{x} \pm \sigma/\sqrt{N}$ ).

L'augmentation de la dose de 1  $\alpha$ -OHCC injectée (1,5  $\mu$ g/kg au lieu de 1  $\mu$ g/kg) a des effets variables selon le mode d'injection. La calcémie des 3 animaux ayant reçu 1,5  $\mu$ g/kg IV est supérieure, 120 h après l'injection ( $11,83 \pm 0,49$  mg/100 ml) à celle des 5 animaux ayant reçu, par la même voie, 1  $\mu$ g/kg ( $10,16 \pm 0,32$  mg/100 ml) ( $P < 0,05$ ). Une différence analogue se retrouve au même moment entre la calcémie des animaux ayant reçu, par voie SC, 1  $\mu$ g/kg ( $11,37 \pm 0,11$  mg/100 ml) ou 1,5  $\mu$ g/kg ( $12,67 \pm 0,44$  mg/100 ml) ( $P < 0,05$ ). La calcémie des 3 vaches traitées par voie IM avec 1,5  $\mu$ g/kg est supérieure ( $P < 0,05$ ), aux temps 72 h ( $11,87 \pm 0,18$  mg/100 ml) et 96 h ( $11,83 \pm 0,14$  mg/100 ml) à celle des 4 animaux traités, de la même façon, avec 1  $\mu$ g/kg (72 h :  $11,02 \pm 0,35$  mg/100 ml ; 96 h :  $10,85 \pm 0,35$  mg/100 ml). Cette différence disparaît au temps 120 h.

### Influence du 1 $\alpha$ -OHCC chez les vaches parturientes.

L'injection par voie IM de 1  $\alpha$ -OHCC (1 ou 1,5  $\mu$ g/kg), effectuée au moment de la mise-bas, inhibe de façon significative, dès la 12<sup>e</sup> heure suivant l'injection, la baisse de la calcémie et de la phosphatémie survenant chez les 19 vaches parturientes *Holstein*  $\times$  *Frissonnes*. Simultanément, 12 h après l'injection, la magnésémie des animaux traités est légèrement mais significativement inférieure à celle des témoins. Entre la 24<sup>e</sup> et la 120<sup>e</sup> heure après l'injection, la calcémie et la phosphatémie des 19 animaux traités sont toujours significativement supérieures à la calcémie et à la phosphatémie des 12 témoins, alors qu'il n'existe aucune différence significative au niveau de la magnésie. La calcémie et la phosphatémie des 9 vaches ayant reçu une dose de 1  $\mu$ g/kg ne sont jamais significativement différentes de la calcémie et de la phosphatémie des 10 animaux traités avec 1,5  $\mu$ g/kg (fig. 2).

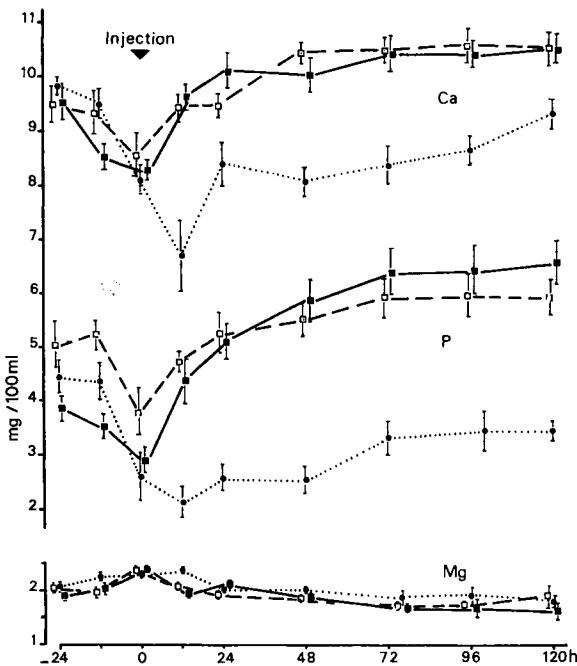


FIG. 2. — Influence d'une injection IM de 1  $\alpha$ -OHCC sur la calcémie, la phosphatémie et la magnésémie de la vache parturiente (Trait plein : 1,5  $\mu$ g/kg ; batonnet : 1  $\mu$ g/kg ; pointillé : témoins) ( $\bar{x} \pm \sigma / \sqrt{N}$ ).

La calcémie ( $8,9 \pm 0,12$  mg/100 ml) et la phosphatémie ( $4,37 \pm 0,22$  mg/100 ml) des 3 animaux *Jersiais* ayant reçu le 1  $\alpha$ -OHCC par voie IV (1  $\mu$ g/kg) sont significativement supérieures à la calcémie ( $4,91 \pm 0,37$  mg/100 ml) et à la phosphatémie ( $3,10 \pm 0,56$  mg/100 ml) des 3 témoins, dès la 6<sup>e</sup> heure après l'injection ( $P < 0,05$ ). Cette différence significative persiste pendant 10 jours après le traitement, et disparaît le 11<sup>e</sup> jour. Entre la 12<sup>e</sup> et la 96<sup>e</sup> heure après l'injection, la magnésémie des traités est généralement inférieure à celle des témoins.

Chez les 22 vaches parturientes traitées par voie IM (19 *Holstein* × *Frissonnes*) ou IV (3 *Jersiaises*) nous n'avons observé aucun cas clinique d'hypocalcémie vitulaire, alors que parmi les 15 témoins, 4 *Holstein* × *Frissonnes* et 1 *Jersiaise* ont présenté les symptômes cliniques et biochimiques (calcémie inférieure à 6 mg/100 ml, phosphatémie inférieure à 2,5 mg/100 ml) du syndrome. La différence du nombre de cas observés entre animaux traités et témoins est hautement significative ( $\chi^2 = 8,6$  ;  $P < 0,01$ ) (tabl. 1).

#### *Toxicité du 1 $\alpha$ -OHCC chez la vache.*

Aux doses utilisées, aussi bien chez les animaux en lactation que chez les animaux parturients, nous n'avons observé aucun signe de toxicité du 1  $\alpha$ -OHCC. De plus, chez les animaux en lactation, chez lesquels nous avons mesuré quotidiennement la quantité de lait produite et la matière sèche consommée pendant les 12 jours suivant l'injection, celle-ci n'a provoqué aucune variation significative de la production laitière ou des quantités consommées (tabl. 1).

### **Discussion.**

Le 1  $\alpha$ -OHCC agit au niveau de ses effecteurs aussi rapidement que le 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> lorsqu'il est injecté au rat (Holick *et al.*, 1973 ; Pechet et Hesse, 1974) ou au poulet (Hausler *et al.*, 1973). L'hydroxylation au niveau du carbone 25 pourrait donc ne pas être indispensable à son activité biologique, ou sinon devrait-elle survenir extrêmement tôt après l'administration de 1  $\alpha$ -OHCC à l'animal. Des résultats récents indiquent que, chez le poulet, le 1  $\alpha$ -OHCC peut être hydroxylé en C<sub>25</sub> au niveau de l'intestin et du foie (Zerwekh *et al.*, 1974), alors que chez le rat cette hydroxylation ne survient qu'au niveau du tissu hépatique (Holick *et al.*, 1976). Ainsi l'activité biologique intense du 1  $\alpha$ -OHCC semble résulter essentiellement de sa rapide conversion en 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> (De Luca, Holick et Holick, 1976). Il semble en être de même chez les bovins. En effet l'hypercalcémie apparaît beaucoup plus rapidement (moins de 6 h) chez les animaux traités par voie IV que chez ceux traités par voie IM ou SC (fig. 1). Injecté par voie IV, le 1  $\alpha$ -OHCC peut être transporté plus rapidement au niveau des effecteurs, mais aussi au niveau du foie, pour y subir une hydroxylation en C<sub>25</sub>.

Les effets du 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> sur la phosphatémie du rat sont variables selon le niveau de celle-ci. Le 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> tend à élever une phosphatémie inférieure à 8,5 mg/100 ml et à abaisser une phosphatémie supérieure à 9,5 mg/100 ml (Garabedian *et al.*, 1976). La phosphatémie de la vache parturiente étant généralement inférieure à 5 mg/100 ml (Kronfeld, 1971 ; Barlet, 1971), l'élévation de la phosphatémie observée chez ces animaux injectés au 1  $\alpha$ -OHCC pourrait donc résulter, comme chez le rat, d'une augmentation de l'absorption intestinale des phosphates (Chen *et al.*, 1974), de leur réabsorption au niveau des tubules rénaux (Puschett *et al.*, 1972), et de leur libération par l'os.

L'influence de divers dérivés de la vitamine D<sub>3</sub> a été étudiée chez les bovins. Ainsi le 25-hydroxycholécalférol s'est révélé décevant dans le traitement et la prophylaxie de l'hypocalcémie vitulaire (Olson *et al.*, 1973a, 1973b). Par contre, le 5,6 trans-25-hydroxycholécalférol, qui stimule rapidement et intensément l'absorption calcique intestinale (Holick, Garabedian et De Luca, 1972), administré par voie IV à la vache,

au moment même de la parturition, inhibe la baisse, plus ou moins accentuée, de la calcémie survenant dans les heures *post-partum* et protège efficacement les animaux contre le syndrome vitulaire (Barlet, 1976a, 1976b). L'élévation rapide et prolongée de la calcémie et de la phosphatémie observée après injection IV de 1  $\alpha$ -OHCC chez le veau préruminant, le bouvillon et la vache en lactation, indiquait que ce dérivé synthétique pourrait constituer un agent prophylactique efficace à l'encontre de l'hypocalcémie vitulaire (Barlet, 1975). Injecté au moment même de la mise-bas, le 1  $\alpha$ -OHCC inhibe significativement la baisse de la calcémie et de la phosphatémie chez les 19 animaux traités par voie IM (fig. 2) et chez les 3 *Jersiaises* traitées par voie IV. Chez 6 vaches *Holstein* ou *Brunes des Alpes* recevant par voie IV 100  $\mu$ g de 1  $\alpha$ -OHCC, au moins 24 h avant la mise-bas, avec injections répétées de cette dose toutes les 48 h jusqu'à la mise-bas, la calcémie et la phosphatémie des animaux s'élevait d'environ 2 mg/100 ml pendant les 12 h précédant et les 48 h suivant le vêlage (Marquardt *et al.*, 1975). Chez 10 vaches *Frisonnes*, une injection de 250  $\mu$ g de 1  $\alpha$ -OHCC par voie IM dans les 2 h suivant le vêlage induisait une élévation de la calcémie et de la phosphatémie persistant pendant 72 h (Sansom *et al.*, 1976). Chez nos animaux, l'injection IV ou IM de 1  $\alpha$ -OHCC (1 ou 1,5  $\mu$ g/kg) induit une élévation de la calcémie et de la phosphatémie apparaissant 6-12 h plus tard, et persistant au moins 120 h (fig. 1 et 2). Les résultats rapportés ici démontrent aussi que la voie d'injection n'a pas une influence prépondérante sur l'amplitude et la durée de l'élévation de la calcémie et de la phosphatémie (fig. 1). L'effet prolongé pourrait résulter, au moins partiellement, d'un stockage temporaire du 1  $\alpha$ -OHCC avant qu'il ne soit hydroxylé en 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> (Zerwekh *et al.*, 1974 ; Holick *et al.*, 1976).

La prophylaxie du syndrome vitulaire basée sur l'utilisation de vitamine D s'est heurtée à un obstacle difficile à surmonter : pour que le traitement soit efficace, il fallait procéder à l'injection vitaminique en temps opportun, et prévoir la date exacte de vêlage plusieurs jours à l'avance (Kronfeld, 1971). L'utilisation du 1  $\alpha$ -OHCC résout cette difficulté. Ce dérivé synthétique, injecté par voie IM au moment même de la mise-bas, prévient efficacement l'apparition du syndrome vitulaire. De plus, aux doses utilisées, son absence de toxicité est démontrée par l'absence de diminution des quantités consommées et de la production laitière (tabl. 1). La baisse légère et fugace de la magnésémie observée chez les animaux traités ne semble avoir aucune influence néfaste, d'autant plus que la parturition chez la vache est généralement associée à une augmentation du magnésium plasmatique (Kronfeld, 1971 ; Barlet, 1971).

En conclusion, injecté par voie IM (1  $\mu$ g/kg) à la vache en lactation, le 1  $\alpha$ -OHCC induit une élévation rapide et prolongée de la calcémie et de la phosphatémie, sans provoquer de diminution des quantités consommées ou de la production laitière. Chez la vache parturiente, la même dose injectée au moment même de la mise-bas inhibe l'hypocalcémie et l'hypophosphatémie *post-partum*, et protège efficacement les animaux contre le syndrome vitulaire.

Accepté en décembre 1976.

#### Remerciements.

Les animaux *Holstein*  $\times$  *Frisons* utilisés dans cette expérimentation ont été mis à notre disposition par M. Journet et B. Marquis (Laboratoire de Production Laitière). Le 1  $\alpha$ -OHCC était fourni par le Dr J. L. Le Bossé (Laboratoires Léo-France).

## Références

- BARLET J.-P., 1971. Rôle de la calcitonine dans la régulation du métabolisme phospho-calcique des ruminants. Cas particulier : le syndrome vitulaire de la vache laitière. *Thèse Doct. Etat Sci. Nat.*, Université de Clermont-Fd, 214 p., C.N.R.S. AO 6020.
- BARLET J.-P., 1975. Influence du 1  $\alpha$ -hydroxycholecalciférol sur la calcémie et la phosphatémie des bovins. *C. R. Acad. Sci. Paris, D*, **281**, 1497-1500.
- BARLET J.-P., 1976a. Prophylaxie et thérapeutique de l'hypocalcémie vitulaire par les isomères ou les métabolites de la vitamine D. I. — Le 5,6 trans-25-hydroxycholecalciférol. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **16**, 709-718.
- BARLET J.-P., 1976b. Influence de quelques dérivés de la vitamine D sur la calcémie de la vache parturiente. *J. Physiol. Paris*, **72**, 65A.
- BRICKMAN A. S., COBURN J. W., FRIEDMAN G. R., OKAMURA W. H., MASSRY S. G., NORMAN A. W., 1976. Comparison of effects of 1  $\alpha$ -hydroxy-vitamin D<sub>3</sub> and 1,25-dihydroxy-vitamin D<sub>3</sub> in man. *J. clin. Invest.*, **57**, 1540-1547.
- CHEN T. C., CASTILLO L., KORYCKA-DAHL M., DE LUCA H. F., 1974. Role of vitamin D metabolites in phosphate transport of rat intestine. *J. Nutr.*, **104**, 1056-1060.
- DE LUCA H. F., 1973. The kidney as an endocrine organ for the production of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>, a calcium-mobilizing hormone. *New Engl. J. Med.*, **289**, 359-365.
- DE LUCA H. F., 1974. Vitamin D : the vitamin and the hormone. *Fed. Proc.*, **33**, 2211-2219.
- DE LUCA H. F., HOLICK S. A., HOLICK M. F., 1976. The metabolism and function of 1  $\alpha$ -hydroxy-vitamin D<sub>3</sub>. *Calcif. Tiss. Res.*, **suppl. 21**, 128-135.
- GARABEDIAN M., PEZANT E., MIRAVET L., FELLOU C., BALSAN S., 1976. 1,25-dihydroxycholecalciferol effect on serum phosphorus homeostasis in rats. *Endocrinology*, **98**, 794-799.
- HAUSSLER M. R., ZERWEKH J. E., HESSE R. H., RIZZARDO E., PECHET M. M., 1973. Biological activity of 1  $\alpha$ -hydroxycholecalciferol, a synthetic analog of the hormonal form of vitamin D<sub>3</sub>. *Proc. nat. Acad. Sci., (Wash.)*, **70**, 2248-2252.
- HOLICK M. F., DE LUCA H. F., 1974. Vitamin D metabolism. *Annu. Rev. Med.*, **25**, 349-367.
- HOLICK M. F., GARABEDIAN M., DE LUCA H. F., 1972. 5,6 trans-25-hydroxycholecalciferol : vitamin D analog active on intestine of anephric rats. *Science*, **176**, 1247-1248.
- HOLICK M. F., KASTEN-SCHRAUFROGEL P., TAVELA T., DE LUCA H. F., 1975. Biological activity of 1  $\alpha$ -hydroxyvitamin D<sub>3</sub> in the rat. *Arch. Biochem. Biophys.*, **166**, 63-66.
- HOLICK M. F., SEMMLER E. J., SCHNOES H. K., DE LUCA H. F., 1973. 1  $\alpha$ -hydroxy derivative of vitamin D<sub>3</sub> : a highly potent analog of 1  $\alpha$ ,25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *Science*, **180**, 190-191.
- HOLICK M. F., TAVELA T. E., HOLICK S. A., SCHNOES H. K., DE LUCA H. F., GALLAGHER B. M., 1976. Synthesis of 1  $\alpha$ -hydroxy 6-<sup>3</sup>H vitamin D<sub>3</sub> and its metabolism to 1  $\alpha$ ,25 dihydroxy 6-<sup>3</sup>H vitamin D<sub>3</sub> in the rat. *J. biol. Chem.*, **251**, 1020-1024.
- HUGHES M. R., BRUMBAUGH P. F., HAUSSLER M. R., WERGEDAL J. E., BAYLINK D. J., 1975. Regulation of serum 1  $\alpha$ ,25 dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> by calcium and phosphate in the rat. *Science*, **190**, 578-579.
- KRONFELD D. S., 1971. Parturient hypocalcaemia in dairy cows. *Adv. vet. Sci. comp. Med.*, **15**, 133-157.
- MARQUARDT J.-P., HOLICK M. F., HORST R. L., JORGENSEN N. A., DE LUCA H. F., 1975. Efficacy of 1  $\alpha$ -hydroxyvitamin D<sub>3</sub> on prevention of parturient paresis. *J. Dairy Sci.*, **57**, 606.
- OLSON W. G., JORGENSEN N. A., BRINGE A. N., SCHULTZ L. H., DE LUCA H. F., 1973a. 25-hydroxycholecalciferol. I. Treatment for parturient paresis. *J. Dairy Sci.*, **56**, 885-888.
- OLSON W. G., JORGENSEN N. A., SCHULTZ L. H., DE LUCA H. F., 1973b. 25-hydroxycholecalciferol. II. — Efficacy of parenteral administration in prevention of parturient paresis. *J. Dairy Sci.*, **56**, 889-895.



- PECHET M. M., HESSE R. H., 1974. Metabolic and clinical effects of pure crystalline 1  $\alpha$ -hydroxy-vitamin D<sub>3</sub> and 1  $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *Amer. J. Med.*, **57**, 13-20.
- PUSCHETT J. B., FERNANDEZ P. C., BOYLE I. T., GRAY R. W., OMDAHL J. L., DE LUCA H. F., 1972. The acute renal tubular effects of 1,25-dihydroxycholecalciferol. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **141**, 379-384.
- SANSOM B. F., ALLEN W. M., DAVIES D. C., HOARE M. N., STENTON J. R., VAAG M. J., 1976. Use of 1  $\alpha$ -OH cholecalciferol in preventing post parturient hypocalcemia and its potential value for the prevention of milk fever in dairy cows. *Vet. Rec.*, **99**, 310-312.
- ZERWEKH J. E., BRUMBAUGH P. F., HAUSSLER D. H., CORK D. J., HAUSSLER M. R., 1974. 1  $\alpha$ -hydroxyvitamin D<sub>3</sub>. An analog of vitamin D which apparently acts by metabolism to 1  $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *Biochemistry*, **13**, 4097-4102.
-