



HAL
open science

La vitamine D vue à travers le prisme du Marmandais

Catherine Héraud

► **To cite this version:**

Catherine Héraud. La vitamine D vue à travers le prisme du Marmandais. Sciences pharmaceutiques. 2016. dumas-01452274

HAL Id: dumas-01452274

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01452274>

Submitted on 1 Feb 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE DE BORDEAUX
COLLEGE SCIENCES DE LA SANTE
U.F.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 2016

Thèse N° 98

Thèse pour l'obtention du
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

Le 5 septembre 2016

Par

Catherine HERAUD

Née le 22 mars 1959 à Agen

La Vitamine D vue à travers le prisme du Marmandais

Directeur de thèse
Madame Catherine CHEZE

Jury

Madame le Docteur Catherine CHEZE
Madame le Docteur Sylvie Colomer
Monsieur le Docteur Lionel Deserces

Maître de Conférence

Président
Assesseur
Assesseur

REMERCIEMENTS

Un grand Merci à

- Madame le Professeur Chèze pour ses encouragements tout au long de la progression de mon travail. Vous avez su me redonner force et envie quand l'inquiétude et le découragement se faisaient sentir, grâce à votre disponibilité, votre gentillesse et vos conseils. Vous me faites l'honneur de présider et de juger cette thèse. Je vous en remercie et espère ne pas vous décevoir.

- Madame le Docteur Colomer Sylvie d'avoir accepté de faire partie de ce jury. Soyez assuré de ma reconnaissance.

- Monsieur le Docteur Deserces Lionel qui me fait l'honneur de juger mon travail et qui a pu m'apporter une aide appréciable en m'ouvrant les archives de son laboratoire. Soyez assuré de notre gratitude et de notre amitié.

- Mesdames les Docteurs Trigolet Laurence, Chavignier Marie-Caroline, Corradi Elise, Hirrigoyen Virginie, ainsi qu'à Messieurs les Docteurs Weill Guillaume et Chavignier Philippe directrices et directeurs des laboratoires concernés dans cette étude. Non seulement ils m'ont permis un accès sans limites aux données de leur laboratoire mais n'ont jamais omis de me soutenir et m'encourager dans ma démarche.

- Madame et Monsieur les docteurs Simac Catherine et Clabé Alain qui n'ont pas su s'exiler assez loin pour être à l'abri d'une relecture de mon travail.

- Julien et Bianca bien loin également, mais si proches pourtant, qui m'ont apporté un soulagement moral et technique dans le traitement des données.

A toutes ces personnes qui malgré leur charge de travail m'ont toujours accordé un peu de temps pour l'avancement de mon travail, remerciements sincères.

- enfin à mon conjoint, pour sa patience et son dévouement à tous niveaux. Merci pour ta relecture et ton implication dans ce travail de thèse.

- à mes parents ...

SOMMAIRE

Liste des abréviations.	p 5
Liste des tableaux, figures et diagrammes	p 8

INTRODUCTION.	p 12
--------------------------------	------

Partie I : GENERALITES SUR LA VITAMINE D

1. Les "vitamine D"	p 13
1.1 Historique	
1.2 Structure	
1.3 Origines de la vitamine D	
2. Métabolisme de la vitamine D. Régulation	p 16
2.1 Biosynthèse	
2.2 Catabolisme	
2.3 Mécanismes de régulation	
2.4 Mode d'action	
3. Rôles de la vitamine D dans l'organisme et conséquences de l'hypovitaminose D.	p 30
3.1 Homéostasie phosphocalcique et métabolisme osseux	
3.2 Rôles extra-osseux	
4. Evaluation du statut vitaminique D : dosages, valeurs seuils, "Normes"	p 62
4.1 Méthodes d'évaluation : dosage de la vitamine D	
4.2 Valeurs de référence	
5. Hypovitaminose D : prévalence, étiologie, dépistage	p 82
5.1 Prévalence de l'hypovitaminose D	
5.2 Etiologie de l'hypovitaminose D	
5.3 Dépistage des hypovitaminoses D, les indications du dosage de la 25(OH)D.	
6. Prévention et traitement des hypovitaminoses D	p 94
6.1 Prévention	
6.2 Traitement	
7. Hypervitaminose D	p 106

Partie II : ETUDE BIOSTATISTIQUE

1. Matériel et méthode	p 108
1.1 Justification de l'étude	
1.2 Objectifs de l'étude	
1.3 Schéma d'étude	
1.4 Les variables	
1.5 Matériel	
2. Résultats de l'étude et discussion	p 112
2.1 Populations patients et prescripteurs	
2.1.1 Caractéristiques de la population patient.	p 112
Nombre total d'analyses par site	
Nombre d'analyses par sexe	
Nombre de dosages par site et par sexe	
Moyenne d'âge de la population	
Nombre d'analyses par tranche d'âge	
Nombre d'analyses par tranche d'âge et par sexe	
Nombre de dosages en fonction des mois de l'année	
Discussion sur la population patient.	p 120
2.1.2. Caractéristiques de la population des prescripteurs	p 121
Profil des médecins prescripteurs	

Nombre de prescriptions par spécialité médicale	
Discussion sur la population prescripteur	p 124
2.2 Statut vitaminique D de notre population	p 125
2.2.1 taux sérique moyen de vitamine D	
2.2.1.1 Moyenne en vitamine D selon le sexe et le site	
2.2.1.2 Moyenne en vitamine D selon l'âge et le sexe	
2.2.1.3 Moyenne en fonction de la date et de l'ensoleillement	p127
Par année	
Par semestre et par mois	
Par tranche d'âge	
Comparaison avec l'étude d'Hyppönen	p 131
2.2.1.4 Moyenne des taux de 25(OH)D selon la spécialité du prescripteur	
Discussion sur l'étude des moyennes	p 132
2.2.2 Etude des statuts vitaminiques D	p 137
2.2.2.1 Statut vitaminique D au seuil de 75 nmol/l	
Selon le sexe	
Selon la tranche d'âge	
2.2.2.2 Statut vitaminique D selon des seuils intermédiaires	p 137
Statut vitaminique D selon les seuils de 25 et 75 nmol/l par sexe	
Statut vitaminique D selon les seuils de 25 et 75 nmol/l par tranche d'âge	
Statut vitaminique D selon les seuils 25, 50 et 75 nmol/l par sexe	
Statut vitaminique D selon les seuils 25, 50 et 75 nmol/l par site et par sexe	
Statut vitaminique D selon les seuils 25, 50 et 75 nmol/l par tranche d'âge	
Statut vitaminique D selon les seuils 25, 50 et 75 nmol/l au fil des années	
Statut vitaminique D selon les seuils 25, 50, 75 et 150 nmol/l par sexe	
Statut vitaminique D selon les seuils 25, 50, 75 et 150 nmol/l par saison	
Statut vitaminique D selon les seuils 25, 50, 75 et 150 nmol/l par saison et par sexe	
Discussion sur la prévalence de l'insuffisance en vitamine D	p 145
2.2.2.3 Comparaison avec l'étude ENNS 2006	p 147
Présentation selon le PNNS 2006-2010	
Présentation selon la DREES 2015	
Présentation selon le BEH 2012	
Discussion sur la comparaison avec d'autres études	p153
2.3 Evolution de la demande des dosages de vitamine D	p 156
Evolution du nombre d'analyses par année et par sexe	
Evolution du nombre d'analyses par semestre	
Evolution du nombre d'analyses par tranche d'âge	
Evolution des demandes par prescripteur	
Discussion sur l'évolution de la demande des dosages de 25(OH)D	p 162
3. Intérêt et limites de ce travail	p 164
3.1 Les points forts de notre étude	
3.2 Limites et obstacles rencontrés lors des comparaisons avec d'autres études	
3.3 Perspectives	
CONCLUSION	p 169
Bibliographie	p 170
Annexe : schéma du métabolisme de la vitamine D	p 178
Résumé	p 179

Consciente du fait que le plagiat de documents ou de partie de document publiés constitue une violation du droit d'auteur, je me suis appliquée chaque fois que nécessaire à citer les sources utilisées pour construire cette thèse et sans lesquelles ce travail ne serait pas...

Abréviations

1 α (OH)ase	1-alpha-hydroxylase
24(OH)ase	24-hydroxylase
7-DHC	7-déhydrocholestérol
25(OH)D	25-hydroxy-vitamine D ou calcidiol
1,25(OH) ₂ D	1,25-dihydroxy-vitamine D ou calcitriol
Ac	Anticorps
AFSSAPS	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé.
AFNOR	Association française de normalisation
AHRQ	Agency for Healthcare Research And Quality
AMM	Autorisations de Mise sur le Marché
AMPc	Adénosine monophosphate cyclique
ANC	Apports nutritionnels conseillés
ANM	Académie Nationale de Médecine
ANSES	Agence Nationale de Sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'Environnement et du travail.
ARNm	Acide ribonucléique messenger
ATP	Adenosine triphosphate
Bcl2	B-cell lymphoma 2
BEH	Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire
BPCO	BronchoPneumopathie Chronique Obstructive
CaSR	Calcium Sensing Receptor
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CEDIA	Cloned enzyme donor immunoessay
CLIA	Chemiluminescent Immuno Assay
CLHP	Chromatographie en phase Liquide Haute Performance
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CMIA	Chemiluminescent Microparticule Immuno Assay
CNAMTS	Caisse Nationale d'Assurance Maladie des Travailleurs Salariés
CPBA	Competitive Protein-Binding Assays
COX-2	Cyclooxygenase-2
CTX	Télopeptide C Terminal du collagène de type I
CV	Coefficient de Variation
CYP24A1	24 hydroxylase
CYP27A1	25 hydroxylase
CYP27B1	1 α hydroxylase
CYP 450	Cytochrome P 450
D2	Ergocalciférol
D3	Cholécalciférol
DBD	DNA Binding Domain
DBP	Vitamin D Binding Protein
DEQAS	Vitamin D External Quality Assessment Scheme
DREES	Direction de la Recherche, des Etudes, de l'Evaluation et des Statistiques
DMO	Densité Minérale Osseuse
DT1	Diabète de type 1
ECL	Electrochimiluminescence
ECLIA	Electro Chemi-Luminescent Immuno Assay
ELISA	Enzyme-Linked immune Sorbent Assay
EHPAD	(Etablissement d'hébergement pour personnes âgées dépendantes)
ENNS	Etude Nationale Nutrition et Santé
EPIDOS	Epidémiologie de l'ostéoporose
ES / US-ES	Endocrine Society / Union States-ES
ESCEO	European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis

ET	Ecart Type
FDA	Food and Drug Administration
FGF23	Fibroblast Growth Factor 23, facteur de croissance fibroblastique
GDNF	Glial Cell line-derived Neurotrophic Factor
GH	Growth Hormone ou Hormone de croissance
GNGOF	Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français
GRIO	Groupe de Recherche et d'Information sur les Ostéoporoses
HAMA	Human Anti-Mouse Antibodies
HAS	Haute Autorité de Santé
HNF4 α	Hepatic Nuclear Factor 4 alpha
HTA	Hypertension artérielle
IC95 %	Intervalle de confiance à 95 %
IDBP-3	Intracellular Vitamin D Binding Protein 3
Ig	Immunoglobuline
IGF-1	Insulin Growth Factor-1
IMC	Indice de Masse Corporelle
IFN γ	Interferon gamma
IL	Interleukine
INCA2	Etude Individuelle Nationale des Consommations Alimentaires 2
iNOS	inducible NO synthase
IOF	International Osteoporosis Foundation
IOM	Institute Of Medicine
IRC	Insuffisance rénale chronique
JCTLM	Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine
KDIGO	Kidney Disease Improving Global Outcomes
LC-MS/MS	Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry
LBD	Ligand Binding Domain
LED	Lupus érythémateux disséminé
LPS	Lipopolysaccharides
MARRS	Membrane-Associated Rapid Response Steroid binding protein
MAP	Mitogen-Activated Protein
MB	Maladie de Behçet
MICI	Maladie inflammatoire chronique intestinale
MMP	Métalloprotéinase matricielle
NABM	Nomenclature des actes de biologie médicale
NF- κ B	Nuclear Factor-kappa B
NIST	National Institute of Standards and Technology
NCX1	Sodium-Calcium Exchanger 1
NPT2b	Sodium-Phosphate Cotransporter Proteins, Type 1b
NO	Nitric Oxide
NTX	Télopeptide N Terminal du collagène de type I
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
OPG	Ostéoprotégérine
ORS	Observatoire régional de la santé
Pdia3	Protein disulfide isomerase family A member 3
PGE2	Prostaglandin E2
PMCA1b	Plasma Membrane Calcium ATPase 1b
PNNS	Programme National Nutrition Santé
PPAR α	Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha
PPAR γ	peroxisome proliferator-activated receptor γ)
PR	Polyarthrite Rhumatoïde
PTH	Parathormone
PXR	Pregnane X receptor
RAF	Proto-oncogene serine/threonine-protein kinase
RANK	Receptor Activator of Nuclear factor Kappa B

RANKL	Receptor activator of nuclear factor ligand
RCP	Résumé des caractéristiques du produit
RIA	Radio Immuno Assays
RMP	Reference Measurement Procedures
RPPS	Répertoire Partagé des Professionnels de Santé
RXR	Retinoid X Receptor
SEP	Sclérose en Plaques
SFR	Société Française de Rhumatologie
SRA	Système Rénine-Angiotensine
SUVIMAX	Supplémentation en Vitamines et Minéraux Anti-oXydants
TCD	Tube contourné distal
TCP	Tube contourné proximal
TCR	T cell receptor
TGF	Transforming Growth Factor
TLR	Toll Like Receptor
TNF- α	Tumor Necrosis Factor- α
TRPV5	Transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 5
TRPV6	Transient Receptor Potentiel cation channel, subfamily V, member 6
UI	Unité Internationale
UCP2	Uncoupling Protein 2
UNCAM	Union nationale des Caisses d'Assurance Maladie
URL	Unité relative de lumière
UVB	Rayon Ultra-Violet de type B
VDBP	Vitamin D Binding Protein
VHC	Virus de l'Hépatite C
VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine
VLDL	Very Low Density Lipoproteins
VDR	Vitamin D Receptor
VDRE	Vitamin D Response Elements
VDSP	Vitamin D Standardization Program
VRS	Virus respiratoire syncytial

Liste des tableaux, des figures et des diagrammes

PARTIE I		
Liste des Figures		
Figure 1	Structures chimiques des vitamines D2 et D	P 12
Figure 2	Origine endogène de la vitamine D3	P 14
Figure 3	Hydroxylation rénale de la vitamine D	P 17
Figure 4	Diminution de la synthèse cutanée de vitamine D chez le sujet âgé	P 19
Figure 5	Schéma de la régulation de la synthèse du calcitriol	P 22
Figure 6	Régulation du catabolisme du calcitriol	P 23
Figure 7	Structure et flexibilité conformationnelle du calcitriol	P 24
Figure 8	Schéma de la régulation transcriptionnelle de l'expression de CYP24A1 par le récepteur de la vitamine D	P 27
Figure 9	Schéma de l'absorption digestive du calcium au niveau de l'entérocyte	P 30
Figure 10	Schéma de la réabsorption du calcium au niveau du TCD	P 31
Figure 11	Action de la 1,25(OH) ₂ D sur le système RANK/RANK-L/OPG régulant la génèse ostéoclastique	P 33
Figure 12	Schéma résumant la régulation hormonale du métabolisme phosphocalcique	P 35
Figure 13	Conséquences de l'hypovitaminose D sur la structure de l'os	P 37
Figure 14	Mécanismes d'action de la vitamine D sur la sécrétion d'insuline au niveau de la cellule β pancréatique	P 53
Figure 15	Actions de la vitamine D sur le métabolisme de l'adipocyte	P 55
Figure 16	Principe du dosage de la 25(OH)D par méthode de compétition CBPA	P 65
Figure 17	ECL en phase hétérogène	P 65
Figure 18	Dosage en phase homogène et révélation par de la méthode de complémentation de l'enzyme	P 67
Figure 19	a) Hyperparathyroïdie secondaire en fonction de la concentration en 25(OH)D b) Absorption fractionnelle de calcium en fonction du taux de 25(OH)D	P 74
Figure 20	Evolution des concentrations de 25(OH)D après prise de vitamine D2 ou D3	P 102

Liste des tableaux		
Tableau I	Principales sources alimentaires de vitamine D	P 13
Tableau II	Les principaux sites de stockage de la vitamine D	P 20
Tableau III	Distribution cellulaire et tissulaire du VDR	P 26
Tableau IV	Définition de l'ostéoporose en fonction du T-score	P 38
Tableau V	Récapitulatif des caractéristiques de l'ostéomalacie et de l'ostéoporose	P 39
Tableau VI	Les effets de la vitamine D sur les cellules de l'immunité	P 43
Tableau VII	Détermination des valeurs de référence en fonction de la méthode utilisée	P 76
Tableau VIII	Principales valeurs seuils du statut vitaminique D validées par les sociétés savantes	P 78
Tableau IX	Prévalence de l'hypovitaminose D dans des études françaises et européennes	P 81
Tableau X	Statut en vitamine D de la population française (ENNS 2006-2007)	P 82
Tableau XI	Les différents statuts vitaminiques D chez la personne âgée	P 87
Tableau XII	Indications du dosage de la 25(OH)D	P 90
Tableau XIII	Besoins quotidiens en vitamine D (UI/jour) recommandés selon l'âge d'après plusieurs sociétés savantes	P 94

PARTIE II			
Liste des Tableaux et Diagrammes			
Tableau 1	Diagramme 1	Répartition du nombre d'analyses par site	P 111
	Diagramme 2	Répartition des dosages par sexe	P 112
	Diagramme 3	Répartition homme-femme (CNAMTS 2011)	P 112
Tableau 2	Diagramme 4	Répartition du nombre d'analyses par sexe et par sites	P 112
Tableau 3		Age de la population	P 113
Tableau 4		Age moyen par site et par sexe	P 113
Tableau 5	Diagramme 5	Répartition des dosages par tranche d'âge tous sites	P 114
	Diagramme 6	Répartition des dosages par tranche d'âge par site	P 114
Tableau 6	Diagramme 7	Répartition des dosages par sexe et par tranche d'âge	P 115
	Diagramme 8	Répartition des dosages par sexe et par tranche d'âge (CNAMTS 2011)	
Tableau 7	Diagramme 9	Répartition des dosages par sexe et par tranche d'âge en poids relatif	P 116
Tableau 8	Diagramme 10	Répartition des dosages par site, par sexe de 40 à 99 ans	P 116

Tableau 9	Diagramme 11 Diagramme 12	Nombre d'analyses de 25(OH)D par mois de 2010 à 2015 Nombre d'analyses de 25(OH)D et nombre total de dossiers par mois	P 117 P 118
Tableau 10		Médecins sur le TPS du Marmandais	P 121
Tableau 11		Nombre de dosages par prescripteur	P 121
Tableau 12	Diagramme 13	Répartition des dosages par spécialité prescripteur	P 122
Tableau 13		Répartition des dosages par spécialités prescripteurs selon les données de la CNAMTS 2011 et 2012	P 122
Tableau 14		Moyenne 25(OH)D par sexe	P 125
Tableau 15	Diagramme 14	Moyenne 25(OH)D par sexe et par site	P 125
Tableau 16	Diagramme 15	Moyenne 25(OH)D par tranche d'âge	P 126
Tableau 17	Diagramme 16	Moyenne 25(OH)D par année	P 127
Tableau 18	Diagramme 17	Moyenne 25(OH)D par semestre	P 127
Tableau 19	Diagramme 18 Diagramme 19	Moyenne 25(OH)D par mois et par sexe Moyenne 25(OH)D par mois et par sexe et ensoleillement	P 127 P 128
Tableau 20	Diagramme 20	Moyenne 25(OH)D par sexe, mois, tranche d'âge et ensoleillement en 2013	P 129
Tableau 21	Diagramme 21 Diagramme 22	Moyenne 25(OH)D hommes et femmes (30-54 ans) Moyenne 25(OH)D hommes et femmes Hyppönen	P 130
Tableau 22	Diagramme 23	Moyenne 25(OH)D par prescripteur et par année	P 131
Tableau 23		Statut vitaminique D au seuil de 75 nmol/l	P 136
Tableau 24	Diagramme 24	Statut vitaminique D au seuil de 75 nmol/l selon l'âge	P 136
Tableau 25	Diagramme 25	Statut vitaminique D aux seuils de 25 et 75 nmol/l par sexe	P 137
Tableau 26	Diagramme 26	Statut vitaminique D aux seuils de 25 et 75 nmol/l par tranche d'âge	P 137
Tableau 27	Diagramme 27	Statut vitaminique D aux seuils 25, 50 et 75 nmol/l par sexe	P 138
Tableau 28	Diagramme 28	Statut vitaminique D aux seuils 25, 50 et 75 nmol/l par site chez les femmes	P 139
Tableau 29	Diagramme 29	Statut vitaminique D aux seuils 25, 50 et 75 nmol/l par site chez les hommes	P 139
Tableau 30	Diagramme 30	Statut vitaminique D aux seuils de 25, 50 et 75 nmol/l par tranche d'âge	P 140
Tableau 31	Diagramme 31	Statut vitaminique D aux seuils de 25, 50 et 75 nmol/l par sexe et par tranche d'âge	P 141
Tableau 32	Diagramme 32	Statut vitaminique D par palier de valeurs de 2009 à 2015	P 141
Tableau 33	Diagramme 33	Statut vitaminique D selon les seuils et selon les années	P 142

Tableau 34	Diagramme 34	Statut vitaminique D aux seuils de 25, 50, 75 et 150 nmol/l par sexe	P 143
Tableau 35	Diagramme 35	Répartition des différents statuts vitaminiques D en fonction des saisons en 2013	P 143
Tableau 36	Diagramme 36	Répartition des différents statuts vitaminiques D par saison et par sexe en 2013	P 144
Tableau 37		Répartition selon les seuils de l'ENNS 2006	P 147
Tableau 38		Répartition selon les seuils de l'ENNS 2006 : hommes	P 147
Tableau 39		Répartition selon les seuils de l'ENNS 2006 : femmes	P 147
	Diagramme 37	Répartition des statuts vitaminiques D, selon le sexe et l'âge : données Marmandais 2009-2015	P 147
	Diagramme 38	Répartition des statuts vitaminiques D selon le sexe et l'âge : source PNNS 2006-2010	P 147
Tableau 40	Diagramme 39	Statuts vitaminiques D du Marmandais selon la présentation de la DREES	P 149
	Diagramme 40	Statuts vitaminiques D selon les classes d'âge : source DREES 2015	P 149
Tableau 41		Nombre d'heures d'ensoleillement	P 150
Tableau 42	Diagrammes 41-42-43-44	Comparatif Marmandais 2009-2015 / ENNS 2006-2007	P 151
Tableau 43	Diagramme 47	Nombre d'analyses par année et par sexe	P 155
	Diagramme 45	Evolution du nombre de dosages : source CNAMTS	P 155
	Diagramme 46	Augmentation du nombre de dosages par année	P 156
Tableau 44	Diagramme 48	Evolution du nombre d'analyses homme/femme	P 156
Tableau 45	Diagramme 49	Evolution du nombre de dosages 25(OH)D et du nombre total de dossiers par semestre	P 157
Tableau 46	Diagramme 50	Nombre d'analyses par tranche d'âge et par année : Femme	P 158
Tableau 47	Diagramme 52	Nombre d'analyses par tranche d'âge et par année : Femme en poids relatif	P 158 P 159
Tableau 48	Diagramme 51	Nombre d'analyses par tranche d'âge et par année : Homme	P 159
Tableau 49	Diagramme 53	Nombre d'analyses par tranche d'âge et par année : Homme en poids relatif	P 159
Tableau 50	Diagramme 54	Nombre de dosages par prescripteur par année	P 160
Tableau 51	Diagramme 55	Répartition des demandes de dosages par prescripteur par année	P 160

INTRODUCTION

L'importance de la vitamine D dans le métabolisme osseux n'est plus à démontrer et ses effets sur certaines pathologies autres que musculo-squelettiques, même s'ils ne sont pas actuellement entièrement démontrés ou expliqués, ont fait l'objet de bien des publications.

Dans la première partie de cette étude nous passerons en revue les différents paramètres biologiques concernant la vitamine D : son métabolisme, ses effets osseux et non-osseux ainsi que les conséquences de sa déficience, les débats et les prémices d'un consensus portant sur la standardisation du dosage, les seuils de normalité, les indications du dosage, les besoins et la supplémentation. Le seul point unanimement reconnu par tous les experts est la prévalence globale de l'hypovitaminose D démontrée par de nombreuses études à travers le monde. Ceci a certainement amené les médecins à prescrire de plus en plus fréquemment le dosage de cette vitamine-hormone et les laboratoires à s'équiper de techniques automatisées.

Pour asseoir cette hypothèse, nous évaluerons, en deuxième partie, le statut vitaminique D d'une population du Sud-Ouest de la France, prise dans son ensemble et suivrons l'évolution des demandes de dosages par différentes catégories de prescripteurs. Une étude observationnelle à partir des relevés de valeurs de vitamine D de quatre laboratoires du Marmandais ces dernières années nous permettra de jeter les bases d'une réflexion sur l'étendue de l'hypovitaminose D dans cette région et sur l'intérêt d'un dépistage systématique.

1. Les "vitamine D"

1.1 Historique

Le rachitisme, causé par une carence en vitamine D chez l'enfant, est connu depuis l'Antiquité. Au XIX^{ème} siècle, les médecins Bretonneau et Trousseau démontrent le pouvoir antirachitique de l'huile de foie de morue. En 1919 Sir Edward Mellanby démontre les propriétés anti-rachitiques d'une vitamine liposoluble qu'il dénomme vitamine D et en 1922 Mc Collum et son équipe identifie cette vitamine (1)

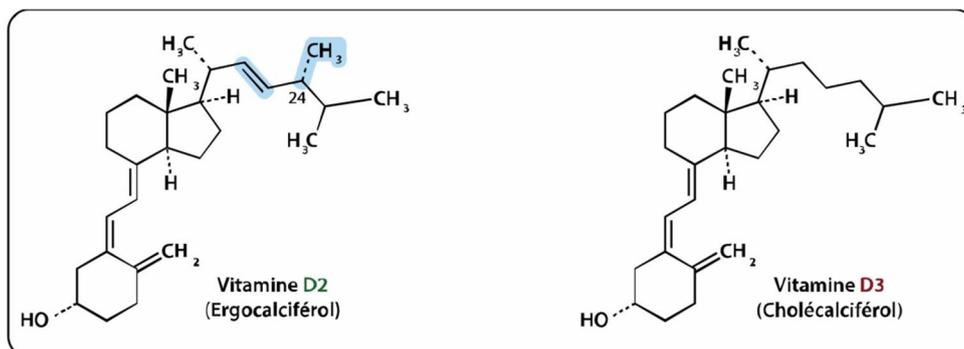
Puis c'est Adolf Windaus qui isole la vitamine D (la D₂, puis la D₃) et qui en détermine la structure moléculaire (prix Nobel de chimie en 1928). La vitamine D est synthétisée pour la première fois en 1952 par le Dr Woodward (prix Nobel de chimie en 1965). En 1964, Norman détecte l'existence de trois métabolites de la vitamine D. Il établira la structure du calcitriol en 1971. En 1968, De Luca isole une substance active sérique : la 25(OH)D, considérée comme reflétant le statut vitaminique D de l'individu. S'en suit alors une longue série de découvertes : le calcitriol, sa synthèse, son métabolisme et ses implications physiopathologiques, son récepteur nucléaire, sa protéine plasmatique porteuse, puis en 2010 la publication d'une carte de son activité à l'échelle du génome.

1.2 Structure

La vitamine D est un terme générique désignant tous les sécostéroïdes présentant une activité anti-rachitique. Elle fait partie du groupe des pro-hormones liposolubles stéroïdiennes (2). Elle est, liposoluble, dégradée par la lumière et l'oxygène, stable jusqu'à 38°C.

Chez l'homme elle existe sous deux formes :

- la vitamine D₂ ou ergocalciférol, d'origine végétale, produite sous l'effet des rayons ultraviolets à partir de l'ergostérol (stérol extrait de l'ergot de seigle).
- la vitamine D₃ ou cholécalciférol, d'origine animale produite à partir de l'irradiation du 7-déhydrocholestérol (7-DHC).



Les vitamines D₂ et D₃ diffèrent uniquement par un groupement méthyle en C₂₄ et une double liaison en C₂₂ (3). Figure 1

Le terme calciférol désigne les deux molécules qui, chimiquement proches, ont la même activité biologique chez l'homme. Ainsi l'appellation vitamine D concerne indifféremment la forme D₂ ou D₃. Cependant, cette activité commune ne se déroule pas avec la même intensité : la forme D₃ est dotée d'une efficacité trois fois plus importante que la forme D₂. Ceci devra être pris en compte dans le calcul des posologies de supplémentation (4).

1.3 Origines de la vitamine D

La vitamine D a une double origine :

- exogène : l'alimentation, y compris les suppléments, apporte D2 et D3
- endogène : synthèse cutanée de la forme D3 uniquement

1.3.1 Les sources alimentaires

Seulement 10 % à 20% de la vitamine D circulante proviennent de l'alimentation (en dehors de toute supplémentation) (2). Celle-ci contient de la vitamine D2 et de la vitamine D3 qui seront absorbées au niveau intestinal.

On retrouve la vitamine D2 dans les champignons (shiitake sec, bolet), les levures, les céréales (formes peu courantes dans notre alimentation) (4). Les sources alimentaires de vitamine D3 sont principalement les poissons gras de mer (morue, sardine, flétan, saumon), foies d'animaux, jaune d'œufs, margarine, beurre, fromage. Tableau I.

Aliment	Teneur en UI par 100 g
Vitamine D2	
Shiitaké séché	80 - 1 000
Bolets secs / morilles sèches	130
Vitamine D3	
Huile de foie de morue	8 000 - 10 000
Huile de flétan	900
Hareng, saumon, thon sauvage	600 - 800
Saumon d'élevage	280 - 400
Sardine à l'huile en boîte, maquereau	300 - 450
Truite, thon en boîte, flétan, huître	120 - 320
Sole, brochet	80
Foie de veau	20
Jaune d'œuf	120 - 320
Beurre	50
Fromage	10 à 40
Lait entier en poudre	15
Lait entier	1
Laitages ou céréales enrichis en vitamine D	50

Tableau I. Principales sources alimentaires de vitamine D (5-6) (Données Ciquál)

La teneur en vitamine D présente dans les aliments ou dans les médicaments peut être exprimée en Unités Internationales (UI) ou en microgramme (μg) : 1 UI = 0,025 μg ou 1 μg = 40 UI.

L'apport alimentaire quotidien en vitamine D d'un régime normalement équilibré est insuffisant pour satisfaire les besoins en vitamine D (7). (cf chapitre 6)

En ce qui concerne les produits laitiers, seul le lait entier contient de la vitamine D dans sa partie lipidique (30 UI/l). Le lait maternel, quant à lui, est pauvre en vitamine D et dépend du statut vitaminique de la mère (en moyenne 40 UI/l).

1.3.2 Les suppléments alimentaires vitaminés

La vitamine D existe également sous forme de suppléments médicamenteux ou d'aliments enrichis. Différentes spécialités contiennent, à doses variées, soit de la vitamine D2 soit de la vitamine D3, sous des formes plus ou moins hydroxylées. Dans le cas où l'alimentation et la synthèse cutanée ne suffisent pas à obtenir des taux plasmatiques de vitamine D corrects, ces suppléments peuvent constituer alors une autre source de vitamine D, parfois même la source principale.

1.3.3 La source endogène : la synthèse cutanée

La vitamine D provient à 80-90% de la biosynthèse cutanée sous l'effet du rayonnement ultra-violet B (UVB) du soleil (2-3).

Le 7-déhydrocholestérol (7-DHC ou provitamine D3 ou ergostérol) est un précurseur immédiat du cholestérol. Une faible quantité de ce 7-DHC cutané (5 à 15%), lorsqu'il est exposé aux rayons UVB (longueur d'onde 290 à 315 nm) subit une photolyse dans une région profonde de l'épiderme et se transforme en prévitamine D3. Celle-ci, intrinsèquement instable, va subir à température corporelle, une isomérisation thermique (réarrangement de ses doubles liaisons). Ce processus dure quelques heures avant d'aboutir à la vitamine D3. Figure 2.

Cette réaction d'isomérisation thermosensible est réversible. La vitamine D3 ainsi formée peut soit rejoindre la circulation sanguine, soit retourner à son état antérieur, soit générer d'autres produits inactifs (lumistérol, tachystérol...) sous l'action de la chaleur (8).

Une exposition solaire prolongée ne peut engendrer un excès de vitamine D car au-delà d'un certain seuil d'exposition, la prévitamine D3 et la vitamine D3 produites seront transformées en composés inactifs. Le plateau sera atteint à 15 % de la valeur initiale de 7-DHC.

La photo-isomérisation dépend de la dose UV reçue. Après une exposition aux rayonnements UV, le pic sérique de vitamine D3 est atteint en 24 à 48 heures, puis les concentrations déclinent de façon exponentielle avec une demi-vie de 36 à 78 heures. Molécule lipophile, elle peut être stockée pour une utilisation ultérieure dans le tissu adipeux, ce qui prolonge sa demi-vie de 2 à 6 mois (9).

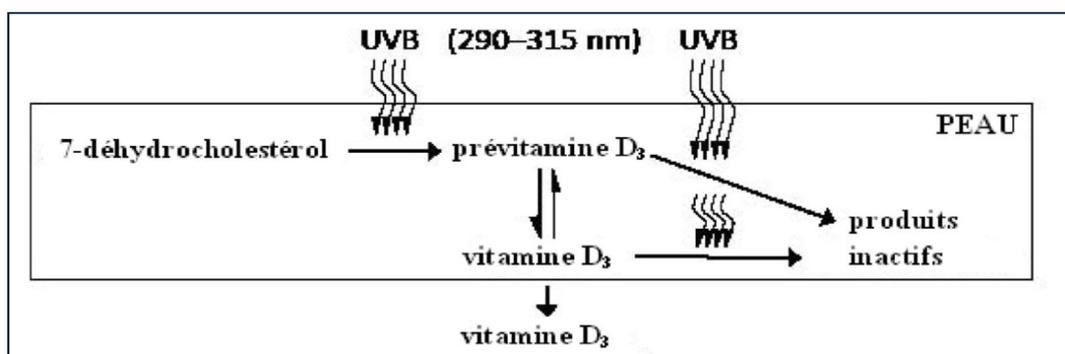


Figure 2 : Origine endogène de la vitamine D3 (10)

La vitamine D3 peut être considérée à ce niveau comme une "pro-hormone" car l'apport majeur vient de sa synthèse cutanée (contrairement à la définition d'une vitamine, que le corps ne peut produire).

2. Métabolisme de la vitamine D – Régulation

La biosynthèse, tout comme la dégradation, sont assurées par des enzymes de type cytochromes P450 (CYP P450) localisées dans les cellules hépatiques et rénales principalement.

2.1 Biosynthèse

Les deux formes de vitamine décrites ci-dessus sont biologiquement inactives ; elles vont subir les mêmes étapes de transformation, deux hydroxylations successives, hépatique puis rénale, pour devenir pleinement actives.

La terminologie de calcitriol s'appliquera à ce métabolite actif provenant de D2 ou de D3, de même que le terme générique de "vitamine D" englobe dans son ensemble le calcitriol, ses métabolites et analogues (3).

2.1.1 Transport

La biodisponibilité et le transport vers la voie sanguine de la vitamine D diffèrent selon son origine endogène ou exogène.

- Les vitamines D2 et D3 exogènes sont absorbées au niveau de l'intestin grêle avec les sels biliaires, puis incorporées aux chylomicrons et aux VLDL qui assurent leur transport via le système lymphatique vers la circulation sanguine (9). Cette absorption est lente, de l'ordre de trois jours pour une dose de vitamine D relativement importante, et non saturable (11). Longtemps considérée comme exclusivement passive, elle impliquerait aussi des transporteurs du cholestérol. La malabsorption des lipides affecte souvent l'assimilation de la vitamine D.

- La vitamine D3 issue de la synthèse cutanée est principalement transportée par sa protéine vectrice, la VDBP ou DBP (Vitamin D Binding Protein,) stockée dans le tissu adipeux ou déversée directement dans la circulation sanguine (12-13).

Dans la circulation sanguine, les vitamines D2 et D3 de nature hydrophobe sont transportées sous forme liée à la DBP (environ 85 %) et à un moindre degré aux lipoprotéines et à l'albumine qui ont une affinité plus faible pour les métabolites de la vitamine D. Ces protéines porteuses assurent leur transport jusqu'au foie.

2.1.2 Hydroxylation hépatique

La première hydroxylation se fait au niveau hépatique sur le carbone C25 de la molécule par des vitamine D-25-hydroxylases pour donner la 25-hydroxyvitamine D ou 25(OH)D :

- la 25-hydroxy-vitamine D3 ou 25-hydroxycholecalciférol ou calcidiol : 25(OH)D3 et
- la 25-hydroxy-vitamine D2 ou 25-hydroxy-ergocalciférol ou calcifédiol : 25(OH)D2.

La 25-hydroxylase est un ensemble d'enzymes de la famille des cytochromes P450 hépatiques (CYP450) situées dans le réticulum endoplasmique ou dans les mitochondries qui peuvent toutes accomplir l'hydroxylation en C25 (CYP2R1, CYP27A1, CYP3A4, CYP2J3, CYP2D25, etc.)

Parmi elles :

- la CYP2R1 d'origine microsomale, caractérisée par une très forte affinité vis-à-vis de la vitamine D contre une faible capacité de transformation. Elle apparaît comme le candidat majeur à la synthèse de 25(OH)D3. En effet, les individus porteurs d'une mutation homozygote du gène codant la CYP2R1 possèdent un taux circulant de 25(OH)D3 effondré.
- la CYP27A1 d'origine mitochondriale, caractérisée par une faible affinité vis-à-vis de la

vitamine D contre une grande capacité de transformation (14). Celle-ci fut la première enzyme identifiée et c'est la plus connue. Elle a été nommée par la suite sous les termes de 25-hydroxylase ou CYP27A1 (Cytochrome P450, famille 27, sous-famille A, polypeptide 1).

- a) Cette hydroxylation hépatique est très peu régulée, pas de rétrocontrôle. Donc la quantité de 25(OH)D produite est proportionnelle à la quantité de vitamine D synthétisée au niveau cutané et/ou ingérée.

- b) Le calcidiol, représente la forme circulante majeure de vitamine D, forme biologiquement peu active car possède une faible capacité de liaison au récepteur de la vitamine D (VDR) (2).

- c) La 25(OH)D est aussi une forme de stockage ou de réserve dans le tissu adipeux (34% du calcidiol), le sérum (30%), le foie et le muscle (15). Elle est mobilisable pendant plusieurs mois. Sa demi-vie est longue, de l'ordre de 3 à 4 semaines grâce à sa grande affinité pour sa protéine porteuse, la DBP (12). Les concentrations plasmatiques de DBP étant élevées, pratiquement toutes les molécules de 25(OH)D présentes dans la circulation lui sont liées.

Pour ces trois raisons, le dosage de la 25(OH)D constitue pour le clinicien un bon indicateur du statut vitaminique D de l'individu (3,13,16).

2.1.3 Hydroxylation rénale

Les dérivés 25-hydroxylés passent dans le sang où ils se lient à la protéine plasmatique DBP afin d'être véhiculés jusqu'au rein. Le complexe 25(OH)D-DBP est filtré par le glomérule rénal et va passer dans les cellules du tube contourné proximal (TCP) selon un processus actif. L'endocytose se fait au niveau de la bordure en brosse des cellules parenchymateuses, via la mégaline qui est la principale voie d'entrée de la vitamine D dans le parenchyme rénal.

La mégaline est une protéine transmembranaire qui fonctionne de concert avec la cubiline, une protéine-récepteur qui assure la séquestration du complexe 25(OH)D-DBP à la surface de la cellule avant son internalisation par la mégaline (17). Elle joue également un rôle dans la conversion intracellulaire de la 25(OH)D en 1,25(OH)₂D. Les niveaux cellulaires de mégaline sont augmentés par la 1,25(OH)₂D₃, fournissant un mécanisme de feed-forward pour sa propre production.

Après endocytose, le complexe est internalisé dans les lysosomes où la DBP va être dégradée par les enzymes lysosomiales libérant ainsi la 25(OH)D. Une fraction de cette 25(OH)D libérée rejoint la circulation sanguine par le pôle basal sans subir de modification. La majeure partie parviendrait aux mitochondries en faisant intervenir des transporteurs intracellulaires de la vitamine D de type 3 ou IDBP-3 (Intracellular Vitamin D Binding Protein 3). Au niveau de la membrane interne mitochondriale, la 25(OH)D subit sa deuxième hydroxylation, sur le carbone 1, sous l'effet de la 25-hydroxyvitamine D-1- α -hydroxylase générant ainsi la 1,25-dihydroxyvitamine D ou 1,25(OH)₂D ou calcitriol, considérée comme la principale forme active de la vitamine D (16). Figure 3.

L'enzyme 25-hydroxyvitamine D-1- α -hydroxylase ou 1 α -hydroxylase (1 α (OH)ase) est un complexe incluant un cytochrome P450 spécifique : le CYP27B1, ubiquitaire mais fortement exprimé au niveau du rein. Cette hydroxylation par la CYP27B1 est très étroitement régulée par les hormones du métabolisme phosphocalcique.

Le gène CYP27B1 possède des polymorphismes qui sont susceptibles de réduire les niveaux circulants ou intracellulaires de 1,25(OH)₂D.

L'hydroxylation rénale est déficitaire chez l'insuffisant rénal chronique.

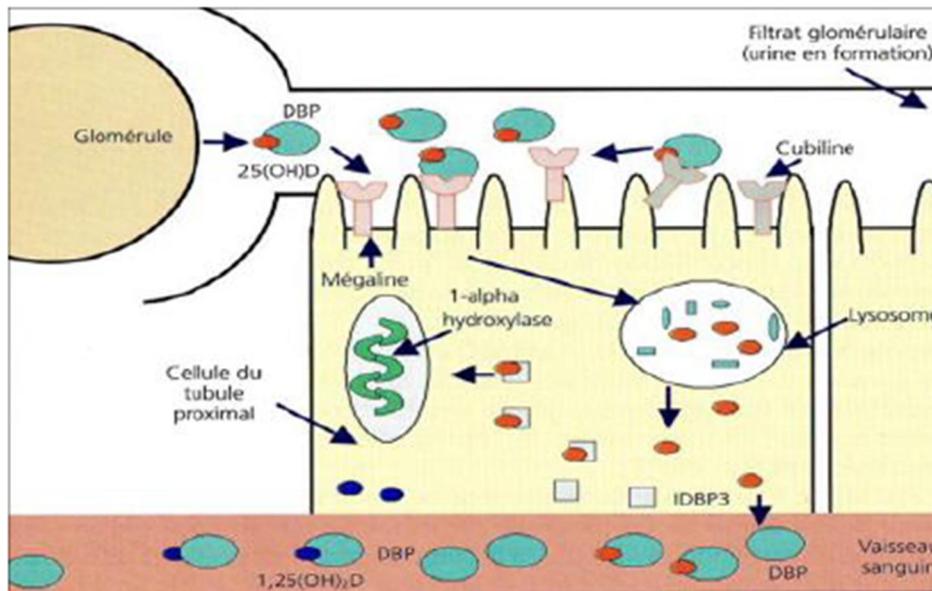


Figure 3 : Hydroxylation rénale de la vitamine D (18)

Ce calcitriol accomplit son rôle au niveau des tissus cibles grâce à sa liaison à un récepteur spécifique, le VDR (Récepteur à la Vitamine D). La $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ est 500 fois plus active que la $25(\text{OH})\text{D}$, mais les concentrations des formes monohydroxylées des vitamines D2 et D3 sont 1000 fois supérieures à la concentration des formes dihydroxylées (9).

Tout comme la vitamine D native ou la $25(\text{OH})\text{D}$, le calcitriol est transporté sous forme liée à la DBP jusqu'aux tissus cibles. Environ 90 % des métabolites circulants de la vitamine D sont liés à la DBP. L'affinité de liaison de la DBP est par ordre décroissant : $25(\text{OH})\text{D} > 24,25(\text{OH})_2\text{D} > 1,25(\text{OH})_2\text{D} >$ vitamine D native. Cette DBP, hautement polymorphe, est synthétisée en grande quantité par le foie (12). Sa concentration plasmatique est de 0,3 mg/ml à 0,5 mg/ml. Elle est donc en très large excès par rapport aux métabolites de la vitamine D. Elle circule à 97 % sous forme libre et représente une forme de stockage de cette vitamine. Elle protège les tissus de niveaux toxiques en vitamine D. Par conséquent, lorsque la concentration de la DBP est réduite, comme dans les hépatopathies chroniques, le syndrome néphrotique ou la malnutrition, il existe un risque plus important de surdosage en vitamine D. A l'inverse, dans certaines situations comme la grossesse ou la prise d'oestrogènes, les concentrations en DBP augmentent en même temps que le risque de déficit en vitamine D. La DBP, présente en très large excès pourrait aussi permettre de limiter l'accessibilité des métabolites aux cellules utilisatrices. En effet lorsque les métabolites de la vitamine D sont liés à la DBP, ils semblent être moins accessibles que les formes libres circulantes, ce qui permettrait ainsi de prolonger leur demi-vie plasmatique et de stabiliser leurs concentrations plasmatiques. Certains phénotypes de DBP ont été associés à des taux bas de DBP ou de $25(\text{OH})\text{D}$.

2.1.4 Synthèse extra-rénale

À côté de cette production rénale majeure, des sites mineurs de production de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ont été identifiés dans un certain nombre de tissus où elle exerce directement son activité biologique : c'est une synthèse autocrine. En effet, certains tissus possèdent leur propre $1\alpha(\text{OH})\text{ase}$ et sont donc capables de produire de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ à partir de la $25(\text{OH})\text{D}$ qui pénètre à l'intérieur de leurs cellules. Des tissus ou des cellules comme os, parathyroïdes, placenta, cerveau, pancréas, poumons, prostate, côlon, kératinocytes, ostéoblastes, monocytes et macrophages expriment la $1\alpha(\text{OH})\text{ase}$.

Cette production hors des cellules tubulaires rénales proximales contribue peu à la formation de 1,25(OH)₂D plasmatique (18) sauf situation particulière : grossesse, sarcoïdose, granulomatose.

2.2 Catabolisme de la vitamine D

L'enzyme d'inactivation de la vitamine D, le CYP24A1 est une 24-hydroxylase (24(OH)ase), mitochondriale, ubiquitaire, de la famille des cytochromes P450. Elle reconnaît à la fois le calcitriol et le calcidiol, sur lesquelles elle agit spécifiquement au niveau de la chaîne latérale aliphatique. Elle convertit les deux sécostéroïdes par hydroxylation sur le carbone C24, puis sur le C23, puis par clivage oxydatif de la chaîne latérale. L'hydroxylation sur le C24 aboutit au 24,25(OH)₂D et au 1,24,25(OH)₃D et constitue la première étape dans la voie d'inactivation qui se termine par la formation d'acide calcitroïque inactif (19).

Ainsi, elle limite les concentrations locales en calcitriol au niveau des différents tissus cibles et elle diminue également le pool de la 25(OH)D disponible pour la 1 α -hydroxylase. Prédominante dans le rein et l'intestin elle est aussi localisée dans toutes les cellules cibles, contrôlant ainsi le taux de vitamine D3 active à l'échelle de l'organisme.

Il existe par ailleurs une voie de désactivation de la vitamine D, non catalysée par les cytochromes, mais qui induit une épimérisation sur le carbone 3 de la vitamine D et de ses métabolites. L'épimère en C3 du calcitriol, présent en grande quantité chez le nouveau-né, reconnu par les méthodes de dosage, aurait moins d'effet hypercalcémiant que le calcitriol lui-même (9,11).

La vitamine D et ses métabolites sont tous éliminés par voie fécale ou par les reins (3).

Des mutations bi-alléliques de CYP24A1 ont été associées à des taux anormalement élevés de la 1,25(OH)₂D (20).

Un schéma du métabolisme est présenté en annexe p 177.

2.3 Mécanismes de régulation

Nous venons de voir que la biosynthèse et la dégradation de la vitamine D sont assurées par des enzymes de type cytochromes P450 (CYP). La régulation de ces enzymes est très étroitement régulée par les hormones du métabolisme phosphocalcique. La vitamine D agit aussi directement sur sa propre synthèse par une boucle de régulation négative via son récepteur nucléaire VDR. De nombreuses études se sont attachées à l'étude de ces rétrocontrôles permettant une meilleure compréhension de ses effets osseux et endocriniens.

Nous joindrons à cette étude les facteurs influençant le statut vitaminique D car en plus d'une régulation physiologique, des paramètres environnementaux et endogènes modulent les concentrations en 25(OH)D (10).

2.3.1 Facteurs influençant la formation d'ergocalciférol et de cholécalciférol

2.3.1.1 Facteurs influençant l'absorption intestinale de la vitamine D d'origine alimentaire

Tout syndrome de malabsorption intestinale peut empêcher l'absorption correcte de la vitamine D. Parmi eux, citons la mucoviscidose, la maladie cœliaque, la cholestase, la maladie de Crohn, une pancréatite chronique ou une intervention chirurgicale bariatrique type by-pass ou sleeve (3).

Quant à la source alimentaire, elle a peu d'influence vu son faible taux participatif à la synthèse de vitamine D (10% environ).

2.3.1.2 Facteurs influençant la synthèse cutanée

La quantité synthétisée par la peau est très variable car elle dépend de plusieurs facteurs intrinsèques et/ou extrinsèques (21-22).

a. Facteurs endogènes

Ils sont conditionnés par l'état de la peau : âge, pigmentation cutanée, pourcentage de masse grasse, fragilité et épaisseur de l'épiderme (chez les personnes âgées).

- Age

Avec l'âge, il existe une diminution des capacités de production cutanée de la vitamine D. Une personne âgée de 70 ans produit quatre fois moins de vitamine D3 qu'un sujet âgé de 20 ans. Les deux hypothèses pouvant expliquer ce phénomène sont d'une part une diminution de la quantité de 7-DHC dans la peau avec l'âge et d'autre part une diminution nette de l'épaisseur de la peau chez les sujets âgés (23-24). Figure 4.

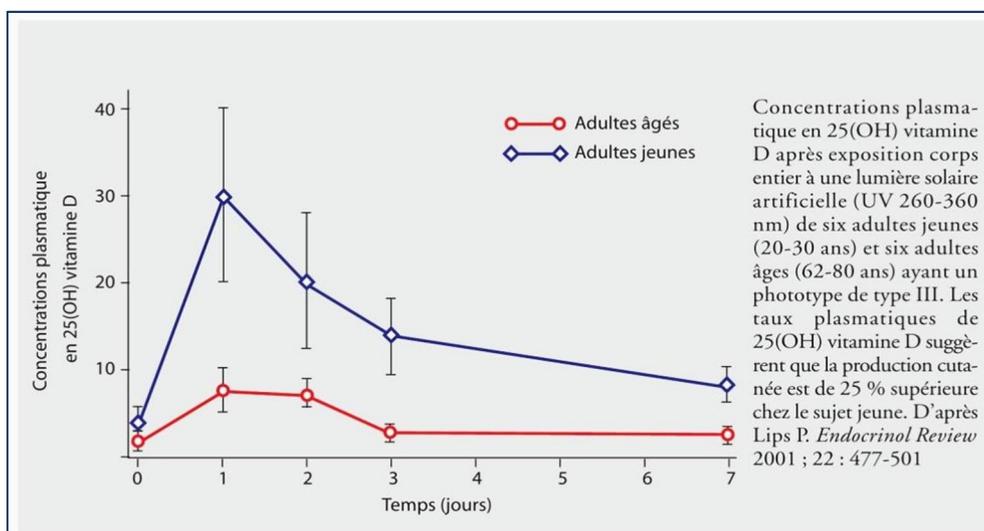


Figure 4 : Diminution de la synthèse cutanée de vitamine D chez le sujet âgé (25)

- Pigmentation cutanée

Le pigment de la peau, la mélanine, agit comme un filtre pour les rayons UV. Elle constitue un excellent écran solaire naturel mais l'augmentation de ce pigment mélanique réduit la synthèse de la prévitamine D3. Ainsi, la prévalence de l'insuffisance en vitamine D est plus importante chez les sujets de peau noire. Un sujet à la peau foncée demande une exposition 3 à 5 fois plus importante qu'un sujet à peau claire pour obtenir des concentrations similaires en vitamine D (22,26). Les conséquences sur l'os ne sont pas négligeables puisqu'en parallèle, le risque de fracture osseuse et d'ostéoporose est majoré dans les populations à la peau foncée comparées à des populations à la peau plus claire.

- Poids, indice de masse corporelle et quantité de masse grasse

Les concentrations de vitamine D circulante sont inversement proportionnelles à l'indice de masse corporelle (IMC). En effet, l'excès de poids serait responsable d'une diminution de la production cutanée, d'une diminution de l'absorption intestinale de vitamine D2 et d'une diminution de la biodisponibilité par effet de séquestration dans les compartiments de masse grasse du fait de sa nature liposoluble (27).

Les formes de réserve de la vitamine D se répartissent en 65 % sous forme de cholécalciférol et 35% sous forme de 25(OH)D. La vitamine D est stockée préférentiellement dans le tissu adipeux qui contient 34 % de la 25(OH)D et 73 % de la vitamine D3 native d'après Heaney (15). Tableau II. Ces réserves, aussi importantes soient-elles chez la personne obèse ne peuvent pallier le manque de synthèse hivernale. Une étude récente a calculé que l'organisme dans sa globalité contenait environ 15 000 UI ; or nos besoins journaliers sont estimés à environ 600 UI/jour (28).

	Vitamine D (UI)	25(OH)D (UI)	Total (UI)
Tissu adipeux	6960	1763	8723
Muscle	1527	1055	2581
Foie	168	214	382
Sérum	271	1559	1830
Autre	571	578	1149
Total	9496	5169	14 665

Tableau II : Les principaux sites de stockage de la vitamine D (15)

Ce stockage, pourrait être à l'origine de déficiences très fréquemment observées chez les personnes obèses dont la masse adipeuse est accrue ainsi que le volume total corporel. Cette expansion de tissu adipeux et de volume global serait à la base d'une dilution volumétrique de la vitamine D.

b) Facteurs exogènes

L'exposition au soleil est le principal déterminant du statut en vitamine D chez l'homme (8). Mais cette exposition au soleil peut être modulée par différents facteurs : intensité du rayonnement solaire, durée d'exposition, angle zénithal solaire, opacifiants aux UV (crèmes solaires, pollution, port de vêtements) (22). Le manque d'exposition au soleil est largement reconnu comme étant la première cause mondiale de carence en vitamine D (29).

b.1. Facteurs liés à l'ensoleillement naturel

La production de vitamine D3 est influencée par la quantité de rayonnement UVB pénétrant la peau. Or, la quantité d'UVB solaires atteignant la biosphère est fonction de la longueur d'onde et de la quantité d'ozone traversée. Elle dépend aussi de l'angle zénithal solaire, de la latitude, de l'altitude, de la saison et de l'heure de la journée.

- latitude et saison :

L'intensité du rayonnement UV doit être supérieure à 18 mJ/cm² pour être efficace. En France métropolitaine (latitude de 40°- 50° Nord), cette dose n'est atteinte qu'entre les mois d'avril à octobre, d'où une fluctuation saisonnière importante. Pendant les mois d'hiver, les radiations sont moins intenses et de plus courtes durées avec une néo-synthèse quasi-absente entre novembre et mars.

La synthèse de vitamine D3 sera plus faible aux latitudes élevées car les radiations y sont moins intenses du fait de l'obliquité des rayons, d'une épaisseur d'atmosphère plus importante à parcourir et d'une durée d'ensoleillement diminuée (30).

Une autre variable est représentée par l'horaire d'exposition : la formation de vitamine D dans la peau est d'autant plus importante que l'angle zénithal, défini comme l'angle entre la verticale (zénith) et les rayons du soleil est faible (été, midi heure solaire, faible latitude). Par

exemple, en Europe, la quantité d'UVB est importante entre 11 heures et 14 heures en été, c'est pendant cette période que la synthèse cutanée est maximale.

- durée d'exposition :

La synthèse cutanée de vitamine D augmente avec la durée de l'exposition solaire (22,31). Chez un individu à la peau claire, une exposition de 10 à 15 minutes du corps entier en été produit entre 10 et 25 000 UI de vitamine D. Actuellement, il est admis comme suffisante une exposition des bras et des jambes aux UVB, durant 10 à 15 minutes par jour, sauf en hiver.

b.2 Les facteurs bloquant l'action des rayons solaires

Certains facteurs liés à notre mode de vie moderne ou les aspects socio-culturels favorisent aussi l'insuffisance. C'est notamment le cas des habitudes vestimentaires, de l'application de crèmes solaires, de la sédentarité, des consignes de photoprotection en prévention des cancers cutanés.

- Crèmes solaires et vêtements

Les crèmes solaires et le port de vêtement bloquent l'action des UVB (32-33). L'application d'une crème solaire d'indice 15 peut réduire la synthèse de 90 % en bloquant la photo-conversion du 7-DHC en pré-vitamine D3 (pour un indice de 30, la diminution va au-delà de 95%). Ceci explique que, paradoxalement, la prévalence du déficit en vitamine D puisse être importante dans des pays à fort ensoleillement, du fait d'un excès de protection solaire et du port de vêtements traditionnels couvrants.

- La pollution atmosphérique, en bloquant la pénétration d'une partie du rayonnement UVB participe aussi à la réduction de la synthèse de vitamine D (tout comme le verre et le plexiglas) (31). Par exemple, dans un environnement typiquement urbain, le rayonnement de surface peut être réduit de 5% (10).

Dans les latitudes élevées plusieurs facteurs s'accroissent pour expliquer la forte prévalence du déficit : latitude, journées courtes, hivers longs, vêtements couvrants contre le froid.

A l'heure actuelle, suite à l'urbanisation, à la sédentarité et aux recommandations des sociétés de dermatologie et d'oncologie sur l'exposition solaire, la production cutanée de vitamine D diminue. La vitamine D va-t-elle retrouver un véritable statut de vitamine ?

2.3.2 Régulation de la synthèse de la 25 OHD

La concentration circulante de 25(OH)D3 est peu régulée. En effet, plus la quantité de vitamine D synthétisée au niveau cutané et/ou ingérée est grande, plus la production de 25(OH)D3 est importante. Néanmoins, dans le foie, l'activité de la 25-hydroxylase peut être modulée à l'étape transcriptionnelle par certains récepteurs nucléaires comme PPAR α et γ , HNF4 α et le PXR (14). Dans les hépatopathies chroniques, une diminution de production de la 25(OH)D peut survenir.

2.3.3 Régulation du calcitriol au niveau rénal

2.3.3.1 Régulation de la synthèse de 1,25(OH) $_2$ D

Dans le rein, l'activité de la 1 alpha-hydroxylase est très étroitement régulée et ce essentiellement par les facteurs régulant le métabolisme phosphocalcique : la PTH, la calcémie, la phosphatémie, le FGF23 et la 1,25(OH) $_2$ D elle-même (16).

- La parathormone (PTH) est le principal régulateur positif de la production de 1,25(OH) $_2$ D au niveau rénal. La PTH intervient en augmentant l'activité du promoteur de la CYP27B1 (et diminue celle de CYP24A1).

- Calcémie et phosphatémie : - via la PTH : l'hypocalcémie augmente la libération de PTH et donc l'activité de la $1\alpha(\text{OH})\text{ase}$. A l'inverse, hypercalcémie inhibe la libération de PTH.

- via un mécanisme de régulation indépendant de la PTH, mécanisme supposé dû à une influence directe d'une concentration basse de calcium dans la lumière tubulaire ou à l'activation directe de la $1\alpha(\text{OH})\text{ase}$ par un facteur sécrété en réponse à la carence en calcium. L'hypophosphatémie augmente aussi l'activité de la $1\alpha(\text{OH})\text{ase}$ rénale, indépendamment de la PTH et de la calcémie, par effet local direct des phosphates sur la cellule tubulaire rénale ou par l'intermédiaire du FGF23. De plus, l'hypophosphatémie diminue la transcription du gène de la $24(\text{OH})\text{ase}$.

- Le FGF23 a sa production régulée par le taux de phosphate circulant. Il inhibe l'expression et l'activité de la $1\alpha(\text{OH})\text{ase}$ et stimule la $24(\text{OH})\text{ase}$. Il inhibe également la sécrétion de PTH et est lui-même contrôlé par la $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ (34). Ainsi, une chute du taux de phosphate sérique réduit la production du FGF23 et empêche alors son effet négatif sur la production de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$.

- La $1,25(\text{OH})_2\text{D}$: Il existe un rétrocontrôle de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ sur sa propre synthèse et son catabolisme, ce qui crée une boucle de régulation évitant l'intoxication par la vitamine D. La $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, diminue l'activité de la $1\alpha(\text{OH})\text{ase}$ et stimule la $24(\text{OH})\text{ase}$ (2,3,14). Figure 5

- D'autres facteurs sont impliqués en tant que médiateurs de la régulation de l'activité de la $1\alpha(\text{OH})\text{ase}$ en réponse à une hypophosphatémie : hormone de croissance (GH), IGF1, insuline.

Il est à noter cependant, que l'activité de la $1\alpha(\text{OH})\text{ase}$ extra-rénale n'est pas régulée, ni par la PTH, ni par le calcium et très peu par la $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, contrairement à la $1\alpha(\text{OH})\text{ase}$ rénale.

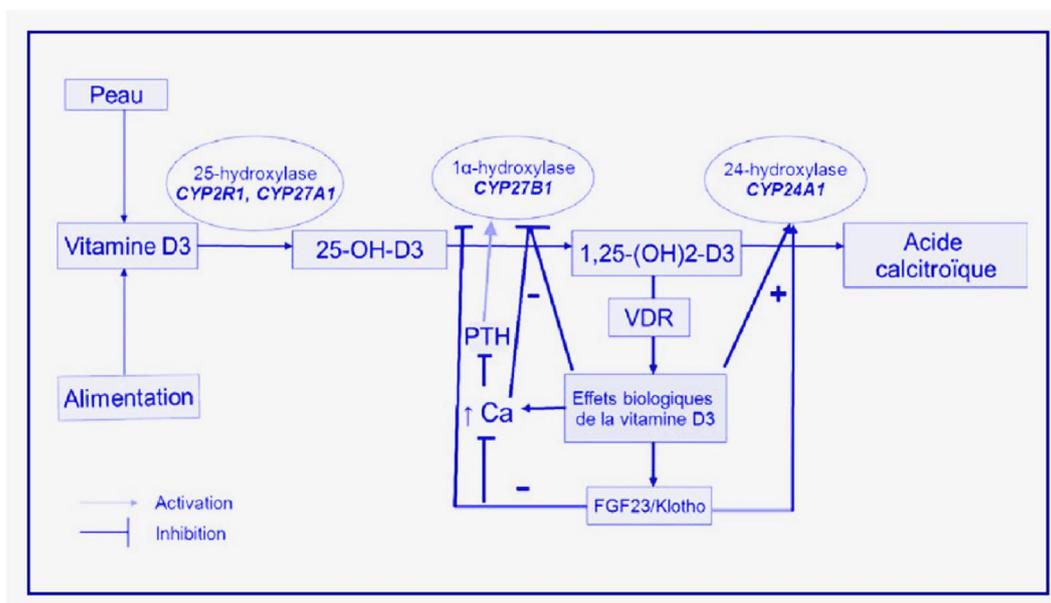


Figure 5 : Schéma de la régulation de la synthèse du calcitriol (20)

En résumé, l'hydroxylation rénale est contrôlée par plusieurs facteurs :

- des régulateurs stimulants : PTH élevée, hypocalcémie, hypophosphatémie, IGF1 augmentée, mais aussi, insuline, hormone de croissance, oestrogènes, récepteur nucléaire PXR (14,16).

- des régulateurs inhibiteurs qui ralentissent la transformation rénale ou entraînent la production de $24\text{-}25(\text{OH})_2\text{D}$, forme inactive : hypercalcémie, hyperphosphorémie, FGF23, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, calcitonine, corticoïdes.

2.3.3.2 Régulation du catabolisme de la 1,25(OH)₂D Figure 6

La dégradation de la vitamine D₃ dépend, dans les reins, de la régulation de la 24-hydroxylase.

1/ Le VDR est le principal facteur de transcription impliqué dans la régulation des gènes codant pour les enzymes influençant le taux de 1,25(OH)₂D : il stimule la transcription du gène codant pour la 24(OH)ase et inhibe l'expression de la 1α(OH)ase. Son importance a été mise en exergue avec la démonstration que des mutations inactivatrices du gène codant pour cette enzyme étaient responsables d'une "hypersensibilité à la vitamine D" avec hypercalcémie néonatale sévère (35).

2/ Des acteurs du métabolisme phosphocalcique : les mêmes facteurs régulant la 1α(OH)ase sont retrouvés, mais avec des effets inversés : le FGF23, la calcitonine, les phosphates et la 1,25(OH)₂D stimuleraient l'expression du gène codant la 24(OH)ase (14). A l'inverse, l'hypophosphatémie diminue la transcription du gène de la 24(OH)ase ainsi que l'hypercalcémie et la PTH.

3/ Un autre récepteur nucléaire, le PXR (Pregnane X Receptor), impliqué dans la régulation du métabolisme des xénobiotiques et des médicaments, permettrait l'induction du gène codant CYP24A1 grâce à son interaction avec les séquences VDRE et réduirait ainsi la concentration sérique de 25(OH)D et de 1,25(OH)₂D (3,14,36). Ainsi, les médicaments anti-épileptiques ou anti-convulsifs, activateurs de PXR, de même que les corticostéroïdes, la rifampicine et la cholestyramine augmentant le catabolisme de la vitamine D, peuvent conduire à une carence en vitamine D. Lorsque ce type de médicament est prescrit à long terme, comme c'est le cas pour les personnes épileptiques ou souffrant d'arthrite, un apport supplémentaire en vitamine D peut s'avérer nécessaire.

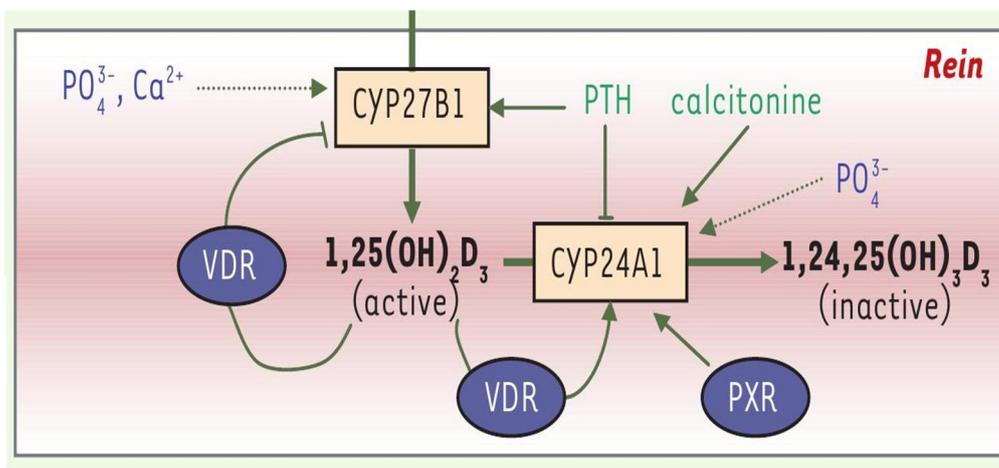


Figure 6 : Régulation du catabolisme du calcitriol (14)
→ stimulation; —| : inhibition;→ : faible action de régulation.

Ainsi la concentration du calcitriol est finement régulée en fonction des besoins en calcium, par la 1-alpha-hydroxylase (régulation positive) et la 24-hydroxylase (régulation négative).

Le CYP27B1 est l'enzyme clé du métabolisme de la vitamine D. Une altération qui touche son fonctionnement cause une hyperparathyroïdie, le rachitisme/ostéomalacie. Des mutations inactivant le gène codant le CYP27B1 conduisent au rachitisme vitamine D-dépendant de type 1 et ceci malgré l'apport correct en vitamine D.

2.4 Mode d'action de la vitamine D

Les effets biologiques ultimes de la vitamine D dépendent de plusieurs molécules telles la protéine de transport (DBP), les enzymes d'hydroxylation et le récepteur de la vitamine D. Comment le stimulus représenté par la fixation de la vitamine D sur son récepteur va-t-il entraîner l'effet biologique résultant ? Ce sont "les voies de signalisation de la vitamine D". Il en existe deux : une voie génomique qualifiée de lente et une voie non-génomique qualifiée de rapide. Toutes les deux passent par une phase primaire de liaison au VDR.

2.4.1 Conformations du calcitriol

La vitamine D présente la particularité d'être une molécule flexible. Cette flexibilité se traduit par des changements conformationnels rapides générant une large variété de formes de ligands s'étendant de la conformation 6-cis à la conformation 6-trans. Plusieurs études ont mis en évidence que les effets génomiques et non génomiques médiés par le calcitriol nécessitent des conformations du ligand différentes (37). Ainsi, en 2004, Norman et coll ont montré que le conformère 6-s-cis est un agoniste fort pour les réponses non-génomiques mais un agoniste faible pour les actions génomiques, alors que le conformère concave 6-s-trans est un agoniste fort pour les réponses génomiques mais un agoniste faible pour les réponses rapides. Figure 7.

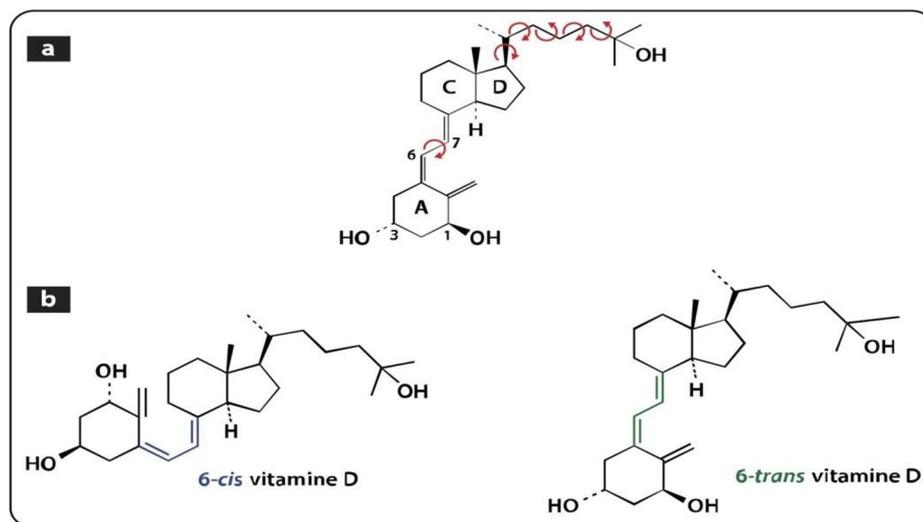


Figure 7 : Structure et flexibilité conformationnelle du calcitriol.

(a) Structure et sites de flexibilité. (b) Conformations 6-cis et 6-trans. La rotation libre de 360° autour de la liaison simple 6,7 génère un continuum de conformations allant de la conformation 6-cis à la conformation 6-trans du Calcitriol (38).

2.4.2 Structure du VDR

Le VDR appartient à la superfamille des récepteurs hormonaux nucléaires activables par la fixation d'un ligand. Le calcitriol est le ligand naturel du VDR (39).

Le VDR présente une organisation modulaire. Il comporte entre autre les deux domaines suivants :

- le domaine liant l'ADN, DBD (DNA Binding Domain), permet la reconnaissance entre VDR et éléments régulateurs de l'ADN. Domaine nécessaire à la translocation du VDR dans le noyau. Des mutations ponctuelles affectant la translocation du VDR vers le noyau sont responsables de rachitisme vitamine D résistant de type 2.

- le domaine liant le ligand, LBD (Ligand Binding Domain) responsable de l'affinité de liaison au ligand et où se localise la zone de liaison sélective au RXR. Malgré le fait que le calcitriol puisse adopter un certain nombre de conformations, un VDR putatif donné n'acceptera qu'une conformation unique dans sa poche LBD.

La 25(OH)D3 et la 24,25(OH)₂D3 se lient au VDR avec une affinité 100 fois plus faible que la 1,25(OH)₂D3.

Le polymorphisme du VDR a été décrit pour plusieurs allèles qui sont associés aux cancers ovariens et pulmonaires, aux maladies auto-immunes (notamment le lupus), aux infections (tuberculose) ou encore au syndrome métabolique (diabète, obésité) et aux complications cardio-vasculaires (40).

2.4.3 Localisation du VDR dans la cellule

Au niveau cellulaire, le VDR se situe essentiellement dans le cytoplasme et dans la zone péri-nucléaire, et en quantité moins importante au niveau membranaire.

- au niveau nucléaire ou cytosolique : en l'absence de son ligand naturel, un équilibre existe entre le VDR présent dans le cytosol et celui présent dans le noyau. En effet, le VDR présent dans le cytosol est capable de traverser la membrane nucléaire. La fixation du ligand sur le LBD induit une translocation nucléaire massive du VDR déplaçant alors l'équilibre. C'est une voie directe puisque récepteur et facteur de transcription ne sont qu'une seule et même protéine.

- au niveau membranaire : le VDR est situé au sein de structures de la membrane cellulaire nommées cavéoles. Au niveau de ces fractions enrichies en cavéoles membranaires, le calcitriol affiche les mêmes affinités de liaison relatives au VDR nucléaire. En réponse à la fixation du ligand, une série de messagers secondaires comme l'AMPc, ou les ions Ca²⁺ par exemple, permettent la transduction du signal grâce à une cascade de phosphorylations / déphosphorylations.

À côté du VDR, un autre récepteur membranaire potentiel a été identifié comme jouant un rôle important dans la voie de signalisation non-génomique. Il s'agit du 1 α ,25-D3-MARRS (pour Membrane-Associated Rapid Response Steroid binding protein).

2.4.4 Localisation du VDR dans l'organisme

Ce VDR est exprimé dans la plupart des types cellulaires, ce qui signifie que toutes les cellules ou presque sont des cibles potentielles du calcitriol (3). La distribution ubiquitaire du VDR permet d'expliquer le grand nombre de gènes (plus de 900) dont la régulation est sous la dépendance directe ou indirecte de la 1,25(OH)₂D. Le projet LoCaVitD (41) aura pour objectif entre autre d'identifier des gènes cibles de VDR.

Les VDR ont été identifiés dans des topographies "calciques" de la vitamine D (intestin, rein, os, glandes parathyroïdes) et dans de nombreux tissus n'intervenant pas dans l'homéostasie phosphocalcique comme les cellules β pancréatiques, les kératinocytes, les cellules immunitaires, les cellules épithéliales bronchiques, les glandes prostatique et mammaires. Tableau III.

Ces tissus vont être ainsi régulés par le système endocrinien ou autocrinien de la vitamine D. La vitamine D interviendra dans des voies métaboliques aussi variées que le métabolisme du calcium, la prolifération, la différenciation cellulaire, l'inflammation, l'apoptose ou encore l'angiogenèse.

Système	Tissus
Gastro-intestinal	Œsophage, estomac, intestin grêle, côlon
Rénal	Reins, urètre
Cardiovasculaire	Muscle cardiaque
Endocrine	Parathyroïdes, thyroïde, surrénale, glande pituitaire
Exocrine	Glandes parotides, glandes sébacées
Reproducteur	Testicule, ovaire, placenta, utérus, endomètre
Immunitaire	Thymus, moelle osseuse, lymphocytes B, lymphocytes T
Respiratoire	Alvéole pulmonaire
Musculo-squelettique	Ostéoclastes, ostéoblastes, chondrocytes
Cutané	Peau, sein, follicule pileux
Nerveux central	Neurones cérébrales
Tissu connecteur	Fibroblastes, stroma

Tableau III. Distribution cellulaire et tissulaire du VDR (42)

2.4.5 Actions endocrine et autocrine

De par la localisation des VDR, il y a deux types d'action du calcitriol :

- **des actions endocrines** : l'hydroxylation rénale permet de produire la $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ "hormone", c'est-à-dire qui va passer dans le sang et aller agir sur des tissus cibles où elle se lie au VDR. Ces tissus sont principalement l'intestin, l'os, les reins et les parathyroïdes où le calcitriol exerce ses "effets classiques".

A noter que cette molécule a été classée initialement dans la catégorie des vitamines alors qu'elle répond aux critères des hormones et plus spécifiquement des hormones sécostéroïdes : tout d'abord de par sa structure (son noyau est commun avec les hormones stéroïdes), d'autre part l'organisme synthétise la vitamine D3, et ensuite de par son mode d'action endocrine et dont le récepteur spécifique présente les caractéristiques des récepteurs nucléaires aux hormones stéroïdes (39).

- **des actions autocrines** : de nombreux tissus expriment la $1-\alpha$ -hydroxylase mitochondriale, le VDR et la 24-hydroxylase et sont des cibles potentielles pour une action locale du calcitriol. La $25(\text{OH})\text{D}$ pénètre dans ces tissus, y est hydroxylée en $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ et ne "ressort" pas de la cellule. L'excès est métabolisé en composé inactif sous l'action de la 24-hydroxylase.

Cette $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ extra-rénale a une action purement locale, autocrine, intracrine ou paracrine. Cette hydroxylation "périphérique" est indépendante de la régulation phosphocalcique. Le calcitriol ainsi produit n'est pas détectable dans la circulation générale. Sa production dépend d'une concentration suffisante de $25(\text{OH})\text{D}$ dans le liquide extracellulaire des tissus concernés (5) et de stimuli cytokiniques (notamment par le $\text{TNF}\alpha$ et l' $\text{IFN}\gamma$). Ce mécanisme est la base de très nombreux effets potentiels dits "non-classiques" de la vitamine D (43).

2.4.6 La voie génomique

C'est le mode d'action classique des hormones stéroïdiennes, le mieux connu, le plus répandu. Le calcitriol se lie à son récepteur cellulaire, le VDR, pour réguler positivement ou négativement la transcription de gènes.

Après sa synthèse rénale la $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ est transportée dans le sang par la DBP. La vitamine D pénètre dans le cytosol de la cellule par simple diffusion ou par mécanisme actif. Là elle se lie à son récepteur cytosolique VDR. Cette fixation entraîne un changement conformationnel activant le VDR, ce qui va permettre sa translocation dans le noyau et une hétérodimérisation optimale avec son partenaire, le récepteur X des rétinoïdes (RXR). Cette dimérisation avec le RXR permet alors au complexe de former une structure en "doigt de zinc" et de s'enchaîner dans une séquence spécifique de l'ADN appelée "élément de réponse à la vitamine D" (VDRE). Cette séquence VDRE est proche de gènes dont l'expression est ainsi soit activée soit réprimée. Le complexe fixé agit comme un facteur de transcription. La réponse biologique résultante de la voie génomique n'est pas immédiate car inclut la durée de la transcription des gènes (via la synthèse d'ARNm) (38). Figure 8

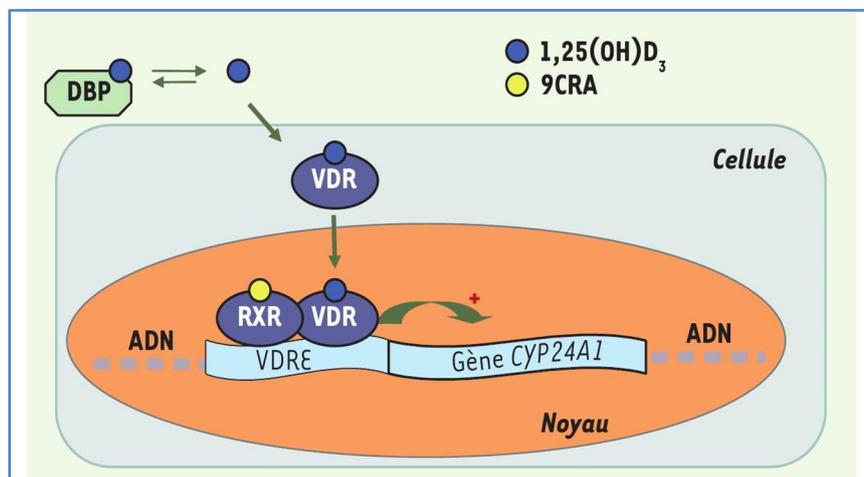


Figure 8. Schéma de la régulation transcriptionnelle de l'expression de CYP24A1 par le récepteur de la vitamine D (59). L'hétérodimère RXR/VDR a comme ligand l'acide rétinoïque 9-cis (9CRA). (+) : activation de la transcription du gène de CYP24A1.

Le VDR peut ainsi activer directement la transcription de certains gènes (exemple du CYP24A1 de la figure 8), mais aussi inhiber celle d'autres gènes comme ceux de la PTH ou le gène CYP27B1 connus pour être négativement régulés par le calcitriol via des éléments de réponse négatifs appelés nVDRE. Ce mécanisme de trans-répression permet une rétro-régulation de la biosynthèse du calcitriol. L'effet inducteur ou répresseur est un phénomène complexe qui implique le recrutement de coactivateurs ou de corépresseurs lors de la fixation du ligand au VDR. De même, il existe une régulation de la synthèse du VDR et par exemple la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ stimule l'ARNm du VDR dans les glandes parathyroïdes et le rein, mais pas dans l'intestin.

En l'absence de ligand, le VDR présent dans le noyau interagit avec son partenaire RXR et le complexe VDR/RXR se fixe sur un élément de réponse mais il est maintenu dans un état "silencieux" par un ou plusieurs corépresseurs (44). La fixation du ligand sur le complexe VDR/RXR induit un changement conformationnel qui entraîne le départ des corépresseurs.

Le mode de régulation génique par le VDR et la vitamine D est largement multifactoriel et fait intervenir de nombreux cofacteurs de transcription.

2.4.7 Voie non-génomique

La vitamine D exerce en plus une large panoplie d'effets rapides qualifiés de non-génomiques puisque prenant place dans le cytosol ou au niveau de la membrane plasmique.

Dans ce cas de figure, le signal récepteur/vitamine D active les voies de signalisation intracellulaires classiques pouvant impliquer l'AMPc, la protéine kinase C, la protéine kinase A, la phospholipase C, le phosphatidylinositol-3-phosphate kinase, la MAP kinase et des RAF Kinases, ou bien induit des modifications dans les flux transmembranaires des ions tels que le calcium. L'intervention des messagers secondaires fait intervenir de nombreuses protéines (45).

Les effets non-génomiques ont été décrits dans de nombreuses cellules comme les kératinocytes, les entérocytes, les cellules musculaires, les ostéoblastes, les chondrocytes, les hépatocytes ou les cellules β du pancréas, cependant le caractère ubiquitaire de ce type de régulation n'est pas encore établi. Par exemple, dans l'intestin, le calcitriol agit sur les composants cellulaires nécessaires au transport du calcium et du phosphate par voie génomique, mais il permet aussi d'amorcer rapidement le transport de ces deux ions par voie non-génomique. Les deux voies peuvent donc être empruntées pour servir la même action (46).

Question : comment le VDR, récepteur nucléaire, facteur de transcription peut-il être aussi associé à des réponses non-génomiques n'impliquant pas de régulation transcriptionnelle des gènes cibles ? Existe-t-il des variants du VDR ou des récepteurs membranaires différents du VDR ? La conformation du ligand joue-t-elle un rôle décisionnel ?

Des données suggèrent que le VDR classique ne serait pas impliqué dans les réponses rapides induites par le calcitriol. Il semblerait que les effets non-génomiques du calcitriol dépendent d'un récepteur membranaire, la protéine disulfide isomérase family A member 3 (Pdia3), également connue sous d'autres noms comme 1,25D3-MARRS. Le rôle de ce récepteur a été bien décrit dans l'entérocyte, où il participe au captage rapide du calcium. Le récepteur Pdia3, après fixation et activation par le calcitriol, active les voies de transduction du signal qui vont être à l'origine des réponses très rapides médiées par ce récepteur en réponse au calcitriol (47).

Ce récepteur $1\alpha,25\text{-D}_3\text{-MARRS}$ (ou Pdia3) appartient à la superfamille des protéines multifonctionnelles et précédemment connu pour interagir avec les hormones thyroïdiennes et œstrogéniques. Il a été montré que la protéine $1\alpha,25\text{-D}_3\text{-MARRS}$ fixe préférentiellement le calcitriol plutôt que la $25(\text{OH})\text{D}_3$ ou la $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Les complexes VDR/calcitriol et $1\alpha,25\text{-D}_3\text{-MARRS/calcitriol}$ possèdent une constante de dissociation similaire.

Ces actions non-génomiques semblent être responsables des effets hypercalcémiques secondaires aux traitements par le calcitriol et ses dérivés (en particulier dans les traitements anti-tumoraux). Aussi la compréhension des mécanismes gérant cette voie est cruciale pour le développement de nouveaux analogues du calcitriol moins hypercalcémiques dans les traitements anticancéreux.

En conclusion, le $1,25\text{D}_3\text{-MARRS}$ et le récepteur nucléaire VDR sont les deux récepteurs retenus actuellement pour leur rôle dans la signalisation non-génomique de la vitamine D3. A ce jour, les mécanismes de la voie non-génomiques ne sont pas clairement élucidés.

L'étude et l'interprétation des mécanismes régissant les effets non-génomiques sont complexes car il y a parfois superposition des effets d'une voie sur l'autre : par exemple, l'activation des kinases produit une amplification des effets génomiques et il existe une communication entre réponses génomiques et non-génomiques (46).

3. Rôles de la vitamine D et conséquences de l'hypovitaminose D

La mise en évidence des récepteurs à la vitamine D dans la plupart des tissus de l'organisme a fait passer celle-ci du rôle de vitamine à tropisme purement phosphocalcique et osseux à celui d'une véritable hormone pléiotrope ayant une implication dans la prolifération, la différenciation cellulaire et jouant ainsi un rôle global sur la santé.

On distinguera les actions dites classiques (essentiellement réalisées par la voie endocrine), concernant le métabolisme osseux, des actions non classiques (voie autocrine et paracrine). Les effets musculaires seront décrits dans cette deuxième partie (en référence à la littérature) bien qu'intimement liés de par leur mode d'action et de par leurs conséquences cliniques aux effets osseux.

Beaucoup d'études tant observationnelles qu'interventionnelles ont été menées afin d'appréhender les conséquences de l'hypovitaminose D. L'Institute of Medicine (IOM), l'Agency for Healthcare Research And Quality (AHRQ) et l'Académie Nationale de Médecine (ANM) ont recensé nombre d'études dont certaines ont été reprises dans le rapport de la HAS de 2013 (48-53). Parmi ces études, certaines seront citées en exemple en mentionnant les références et les résultats abrégés.

3.1 Homéostasie phosphocalcique et métabolisme osseux

La vitamine D est une des composantes majeures du métabolisme phosphocalcique. Les taux plasmatiques relativement faibles de calcium et de phosphore vont être ajustés avec précision à partir des entrées, des sorties et du stock osseux pour permettre le maintien de l'homéostasie phosphocalcique ainsi que la minéralisation du squelette. La vitamine D participe à cet équilibre.

3.1.1 Mécanismes d'action

La forme active de la vitamine D, le calcitriol, se comporte comme une hormone hypercalcémiant et hyperphosphorémiant. Il agit au niveau de quatre organes : intestin, reins, parathyroïdes, os, via sa liaison au complexe VDR-RXR, et, avec les hormones impliquées dans le métabolisme phosphocalcique (PTH, FGF-23 principalement) permet un maintien du remodelage osseux et une homéostasie phosphocalcique. La vitamine D augmente l'absorption intestinale, la réabsorption rénale du calcium et du phosphore et favorise la résorption osseuse (54-55).

a) - action intestinale :

Le calcitriol stimule l'absorption intestinale du calcium (56) et secondairement celle des phosphates (2).

1/ Pour le calcium, deux modes de transport sont mis en jeu et affectés par le calcitriol (16) :
- un transport transcellulaire actif saturable, contre un gradient de concentration, qui se situe au niveau du duodénum et du jéjunum. Il comporte trois étapes vitamino-D dépendantes :
▫ l'entrée de calcium par le côté apical de l'entérocyte (bordure en brosse) via un canal calcique, le TRPV6 (encore appelé CaT1). Le calcitriol régule l'expression de ce canal.
▫ la liaison du calcium à la calbindine-9K (CaBP9K) dans le cytosol qui facilite le transport transcellulaire. Le calcitriol augmente la synthèse de cette protéine. La déficience fonctionnelle de la calbindine peut être compensée par la TRPV6 sous l'influence du calcitriol.

▫ l'extrusion du calcium dans le plasma à travers la membrane basolatérale se fait par deux transporteurs : la PMCA1b qui est une pompe à calcium ATP dépendante, dont le gène est sous le contrôle du calcitriol et le NCX1 qui est un échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ de type 1. Ce processus est lent car nécessite via le VDR la synthèse de protéines comme la TRPV6 et représente 30 à 40 % du calcium ingéré.

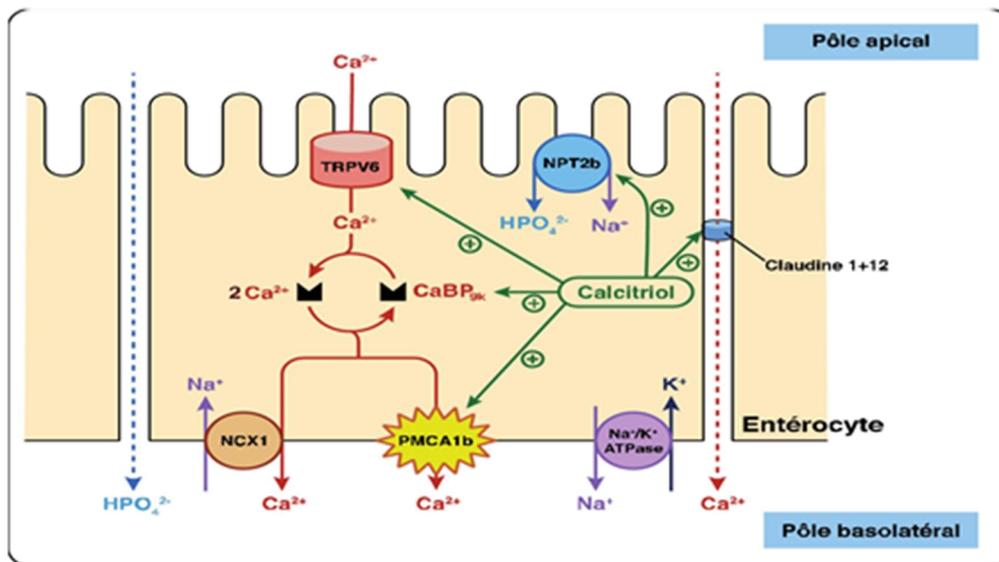


Figure 9. Schéma de l'absorption digestive du calcium au niveau de l'entérocyte [55].

- un transport paracellulaire, passif, non saturable, à travers les jonctions serrées et les espaces intercellulaires, dépendant de la concentration en calcium. Il représente 5 à 10 % du calcium ingéré et se situe surtout dans l'iléon. A ce niveau, le calcitriol augmente la perméabilité du calcium ionisé en stimulant la synthèse et l'expression de claudines, protéines qui participent à la formation de ces canaux calciques paracellulaires.

2/ Pour les ions phosphates : l'absorption intestinale (jéjunum et iléon) existe, comme pour le calcium, sous forme d'un processus actif saturable et d'un processus passif non saturable paracellulaire (majoritaire), mais est moins régulée que pour le calcium. Le processus actif transcellulaire implique un co-transporteur sodium/phosphate NPT2b situé dans la membrane apicale et dont l'expression est sous influence du calcitriol. Figure 9.

Calcium et phosphates sont absorbés de manière passive lorsque les apports sont normaux. Les mécanismes actifs sont mis en œuvre lorsque les apports calciques ou phosphorés sont faibles ou dans certaines conditions physiologiques où les besoins augmentent (croissance ou grossesse) ou encore lorsque la concentration plasmatique de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ est élevée (pathologies comme la granulomatose ou l'hyperparathyroïdie). Ceci entraîne une augmentation significative de la fraction de calcium et de phosphore absorbée par rapport à la quantité ingérée (de 20 à 30 % pour le calcium) et favorise un environnement minéral optimal pour le tissu osseux.

La phosphatémie est également régulée, mais dans des limites plus larges que celles de la calcémie. La première réponse à une hypophosphatémie est la synthèse de calcitriol.

La $25(\text{OH})\text{D}$ aurait aussi une action directe sur l'absorption de calcium au niveau intestinal, certes bien moindre que la $1,25(\text{OH})_2\text{D}$.

PTH et FGF-23 n'ont pas d'action au niveau intestinal sur le métabolisme phosphocalcique.

b) - action rénale

Au niveau des reins, le calcitriol participe à sa propre régulation (inhibe la 1 α -hydroxylase et stimule la 24-hydroxylase) et augmente la réabsorption du calcium et des phosphates (2,16).

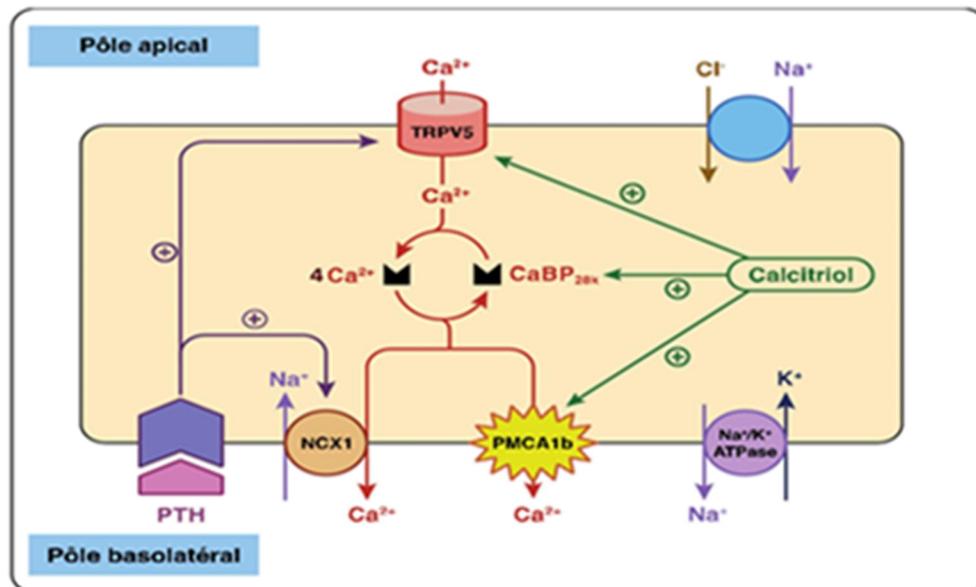


Figure 10. Schéma de la réabsorption du calcium au niveau du TCD (55).

1/- La réabsorption du calcium

Sur les 95 % de calcium réabsorbés au niveau des reins, 10 % le sont au niveau du TCD. Cette portion est soumise au contrôle de la PTH (prépondérant), de la calcitonine (inhibiteur) et de la vitamine D (stimulant mais pour 1% seulement) pour permettre un ajustement fin de la calcémie (calcémie basse : 100 % du calcium sont réabsorbés; calcémie élevée : 50 % sont réabsorbés).

La réabsorption du calcium dans le TCD s'effectue par voie transcellulaire en trois étapes toutes régulées par le calcitriol :

- entrée du calcium dans la cellule par un canal calcique apical, le TRPV5 (ou EcaC)
- transport du calcium à travers le cytosol par la Calbindine-D28K (CaBP28K),
- sortie de la cellule vers l'interstitium par l'échangeur NCX1, échangeur Na/Ca, ou par une calcium-ATPase, la PMCA1b. Figure 10

Le signal VDR stimule l'expression du TRPV5, de la CaBP28K et de la PMCA1b.

2/- La réabsorption du phosphate

90 % environ des phosphates filtrés sont réabsorbés au niveau du TCP, mais il existe un taux maximum de réabsorption (TmPi). Cette réabsorption au niveau proximal se fait en partie grâce à des co-transporteurs sodium/phosphates (NPT2a et NPT2c) exprimés au pôle apical des cellules tubulaires. Leur expression est stimulée par le calcitriol et réduite par la PTH et le FGF23.

3/ actions des autres hormones

- action de la PTH : principale hormone hypercalcémiant et aussi hypophosphatémiant

- Elle augmente la réabsorption rénale du calcium. L'influence du calcitriol sur la réabsorption du calcium est plus modeste que celle de la PTH qui agit en stimulant

l'expression du TRPV5 et du NCX1. En fait ces deux hormones agissent en synergie au niveau du TCD.

- La PTH diminue la réabsorption du phosphore au niveau du TCP. Elle agit en inhibant les co-transporteurs sodium-phosphate (internalisation de NPT2a) diminuant ainsi la phosphatémie.

- Enfin, toujours au niveau des cellules du TCP, elle stimule la synthèse de la 1α -hydroxylase et inhibe la 24-hydroxylase, donc stimule la production de calcitriol qui à son tour inhibe la synthèse et la sécrétion de la PTH, ce qui diminue l'effet hypophosphatémiant de cette hormone.

- action du FGF-23 : hypophosphatémiant

- Le FGF23 et son co-récepteur Klotho diminue la capacité de réabsorption rénale du phosphate en inhibant l'expression des co-transporteurs NPT2a et NPT2c au niveau de la membrane apicale des cellules du TCP. Ceci a pour effet de faire baisser la phosphatémie.

- Toujours dans le TCP, le FGF23 inhibe puissamment l'expression de la 1α -hydroxylase et stimule la 24-hydroxylase par l'intermédiaire de Klotho entraînant une baisse de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. A l'inverse, le calcitriol stimule l'expression du FGF23, augmentant son effet hypophosphatémiant.

- La calcitonine est hypocalcémiant et hypophosphatémiant : elle diminue la réabsorption rénale du calcium, des phosphates et inhibe la 1α -hydroxylase.

c)- action osseuse :

L'effet principal du calcitriol est la mobilisation du calcium osseux en favorisant la résorption ostéoclastique. La libération du pool de calcium/phosphate dans le pool extracellulaire va favoriser la minéralisation des matrices osseuses et cartilagineuses, mais le calcitriol ne participe pas à la fixation de ces ions dans la trame osseuse.

Le calcitriol exerce une action autocrine et paracrine sur les ostéocytes qui produisent la 1α -hydroxylase et expriment le VDR. Seul l'ostéoblaste possède le récepteur VDR et le récepteur à la PTH (PTH-R). Les ostéoclastes ne possèdent ni récepteur au calcitriol ni à la PTH, mais expriment le RANK (Receptor Activator of Nuclear factor Kappa B), une cytokine dont le rôle dans la résorption osseuse est fondamental.

Au cours du remodelage osseux, et notamment de l'activité ostéoclastique, il existe une régulation par les hormones calciotropes et les cytokines de la résorption osseuse : ostéoprotégérine (OPG) et RANKL (RANK Ligand). Le RANKL des cellules souches mésenchymateuses du stroma médullaire se lie à deux récepteurs antagonistes : le RANK et l'OPG. L'OPG est un récepteur exprimé par les ostéoblastes qui inhibe la résorption osseuse en se fixant avec une forte affinité et spécifiquement à son ligand RANKL bloquant ainsi la liaison RANKL-RANK. Donc OPG et RANKL ont des effets inverses sur l'ostéoclastogénèse (57).

Deux actions médiées par le VDR sur l'ostéoblaste :

- le calcitriol va favoriser la synthèse de nombreuses protéines de la matrice extracellulaire telles que le collagène I, l'ostéopontine, ainsi que de l'ostéocalcine et des phosphatases alcalines. De plus, en présence de PTH, il agit sur la différenciation et la maturation des ostéoblastes.

- en situation d'hypocalcémie, l'action de la vitamine D va porter sur la différenciation et l'activation des progéniteurs hématopoïétiques du stroma médullaire en lignées ostéoclastiques entraînant la résorption osseuse. Pour ce faire, elle stimule l'expression du récepteur RANK des précurseurs ostéoclastiques ainsi que l'expression du ligand nucléaire

RANKL. La liaison RANK-RANKL active leur différenciation, leur maturation en ostéoclastes, ainsi que leur activité. Le complexe 1,25(OH)₂D/VDR inhibe aussi l'expression de l'OPG. Le calcitriol en déplaçant l'équilibre RANK/OPG vis à vis du ligand va favoriser l'extraction du calcium et du phosphore de l'os, alors disponibles pour l'ostéogénèse. Figure 11.

L'action ostéolytique et donc mobilisatrice de calcium et de phosphore par la vitamine D nécessite la présence de PTH.

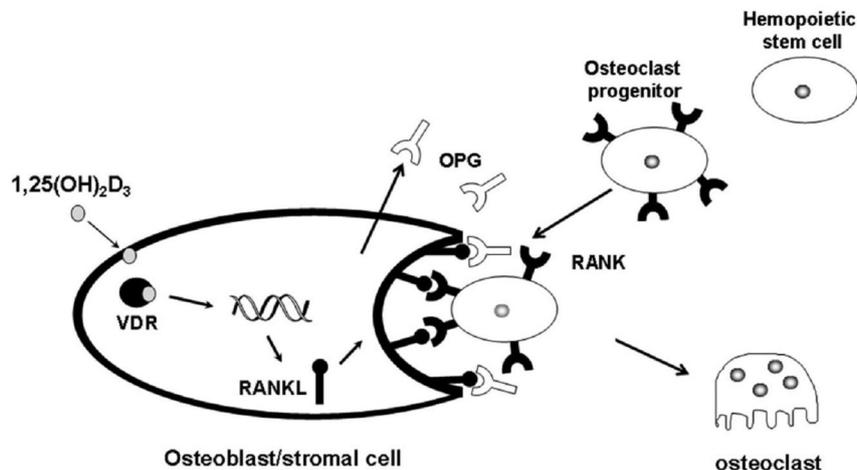


Figure 11 : Action de la 1,25(OH)₂D sur le système RANK/RANK-L/OPG régulant la génèse ostéoclastique (16).

Actions de la PTH au niveau osseux :

- 1/- une action directe en mobilisant le calcium osseux rapidement échangeable vers le milieu extracellulaire. Ce processus est très rapide mais de faible capacité. Il intéresse le calcium "rapidement échangeable" présent sur les couches superficielles de l'os. Il est différent du remodelage osseux qui est un processus continu et de grande capacité.
- 2/- une action moins rapide et plus complexe sur l'os : elle stimule à la fois la formation et la résorption osseuse. L'effet prépondérant dépend de la durée et de l'importance de l'action de la PTH.
 - l'effet anabolique s'effectue par des actions directes sur les ostéoblastes
 - l'augmentation de la résorption osseuse se fait de manière indirecte : elle stimule la différenciation et la fusion des précurseurs ostéoclastiques, en modulant la sécrétion de RANKL par les ostéoblastes. Le rapport d'activité RANKL/OPG augmente sous l'influence de la PTH.

A doses physiologiques, l'effet de la PTH est anabolique et les ostéoblastes sécrètent la matrice osseuse. A doses importantes, l'effet est inverse : les ostéoblastes activent la différenciation et la prolifération des ostéoclastes qui détruisent l'os et permettent la mobilisation du calcium (57).

Actions de la Calcitonine : les ostéoclastes matures expriment un récepteur à la calcitonine, hormone sécrétée par la thyroïde suite à une hypercalcémie. Elle agit directement sur les ostéoclastes de manière importante mais transitoire pour diminuer la résorption osseuse : elle diminue le nombre, l'activité et la durée de vie des ostéoclastes et stimule la reminéralisation de la matrice osseuse. La calcitonine est utilisée dans le traitement de l'ostéoporose post-ménopausique.

d) relations entre vitamine D et les autres hormones du métabolisme phosphocalcique

d.1/ - la PTH régule la calcémie et le métabolisme osseux

Les cellules parathyroïdiennes synthétisent continuellement la PTH et la stockent dans des vésicules. La sécrétion de PTH est étroitement régulée par la concentration sérique en calcium ionisé. Ainsi de faibles variations de la calcémie entraînent de fortes variations de la sécrétion de PTH et ce grâce à un récepteur sensible au calcium, le CaSR très présent au niveau osseux et rénal.

- La diminution de la calcémie ionisée entraîne une libération de PTH en quelques secondes (par inactivation du CaSR), une augmentation de la synthèse de PTH en quelques heures ou quelques jours et une prolifération des cellules parathyroïdiennes en quelques semaines (58). Cette élévation de la PTH va stimuler la synthèse de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ par les 1α -hydroxylases rénales et ostéoblastiques. Cela engendre une stimulation de l'absorption intestinale de calcium, une mobilisation du calcium osseux et une réabsorption du calcium au niveau rénal.

- Lorsque la calcémie ionisée s'élève au-dessus du set-point, le CaSR activé provoque une dégradation de la PTH dans les vésicules de stockage ainsi qu'une inhibition de la réabsorption du calcium au niveau rénal. La sécrétion de calcitonine augmente l'effet hypocalcémiant.

- D'autre part il existe une rétro-régulation, plus lente, sur plusieurs heures, par le calcitriol, qui diminue le taux d'ARNm de la PTH des cellules parathyroïdiennes, sur le mode endocrine ou autocrine car les cellules parathyroïdiennes possèdent le VDR et la 1α -hydroxylase. Le calcitriol exerce également un rétrocontrôle sur la croissance des cellules parathyroïdes limitant ainsi l'hyperplasie des parathyroïdes en cas d'hyperthyroïdie prolongée due à une hypocalcémie persistante (55). Donc, la $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ et la $25(\text{OH})\text{D}$ exercent une action inhibitrice sur la sécrétion de PTH (59). En parallèle, le calcitriol stimule également l'expression du gène codant les récepteurs CaSR, ce qui permet une amplification de son effet supprimeur sur la synthèse la PTH.

d.2/ - FGF-23

Le FGF-23 constitue un facteur clef dans la régulation de la phosphatémie et de la calcitriolémie. Il est synthétisé principalement par les ostéocytes et agit principalement par voie endocrine, ce qui fait de cette molécule une hormone. L'autre particularité du FGF23 est de nécessiter pour son action biologique la protéine membranaire Klotho qui joue le rôle de co-récepteur.

Au niveau osseux, le calcitriol, par l'intermédiaire de son VDR et des VDRE présents dans le promoteur du gène codant le FGF23, stimule sa production, indépendamment du taux de phosphate. Il régule aussi la transcription des gènes codant pour le Klotho.

Les actions principales du FGF23 sont la diminution de la réabsorption tubulaire proximale des phosphates, et diminution de la $1,25\text{OH}_2\text{D}$. En diminuant la calcitriolémie l'absorption intestinale du phosphate diminue, ce qui majore l'action hypophosphatémiant du FGF23.

Les facteurs qui augmentent sa synthèse sont le calcitriol, l'hyperphosphatémie, la PTH.

d.3/- FGF-23 / PTH / Vitamine D

- Le FGF23 a des effets opposés à ceux de la PTH sur la synthèse rénale du calcitriol : le FGF23 diminue le taux du calcitriol. Cette baisse inhibe l'expression du FGF23 dans l'os, formant un rétrocontrôle négatif entre FGF23 et vitamine D.

- Les glandes parathyroïdiennes expriment Klotho et constituent donc une cible du FGF23.

e) en cas d'hypovitaminose D

Le déficit en vitamine D entraîne une hypocalcémie par baisse de l'absorption intestinale et de la réabsorption rénale. La diminution de la calcémie ionisée est responsable d'une augmentation de synthèse et de sécrétion de PTH, augmentant l'hydroxylation de 25(OH)D en 1,25(OH)₂D active. D'où :

- la stabilité des taux de 1,25(OH)₂D au dépens de la 25(OH)D.
- le fait qu'avec une 25(OH)D basse, la concentration sérique de 1,25(OH)₂D peut être normale ou augmentée (61)
- une hyperparathyroïdie secondaire : la diminution du calcitriol entraîne aussi une diminution du rétrocontrôle sur la PTH, conduisant à l'augmentation majorée de la PTH (puisque déjà élevée par l'hypocalcémie). Cette hyperparathyroïdie secondaire va maintenir la calcémie en mobilisant les réserves de l'os ce qui engendre notamment une déminéralisation osseuse (49). L'hyperparathyroïdie secondaire peut être considérée, au moins à court terme, comme une réaction adéquate visant à compenser les troubles du métabolisme phosphocalcique.

Le rôle principal de la vitamine D est de maintenir, directement et par l'intermédiaire de la PTH, une bonne homéostasie du métabolisme osseux tout au long de la vie. La calcémie est ainsi maintenue dans une fourchette très étroite par une interrelation sophistiquée entre les hormones calciotropes. Une altération du métabolisme phosphocalcique peut avoir des répercussions importantes sur les processus de minéralisation des os et des dents.

3.1.2 Conséquences pathologiques de l'hypovitaminose D au niveau osseux

La vitamine D a un impact sur la densité osseuse, sur la qualité de l'os et sur la croissance harmonieuse du squelette. Un déficit profond et prolongé en vitamine D peut causer des pathologies osseuses caractérisées par un défaut de minéralisation de la matrice osseuse : rachitisme chez l'enfant et ostéomalacie chez l'adulte (2,55,62). Une insuffisance moins grave n'entraînera pas de défaut de minéralisation évident mais pourra favoriser une ostéoporose, en particulier chez la femme ménopausée ou le sujet âgé.

Il est admis qu'il existe des déficits en vitamine D non accompagnés de rachitisme ou d'ostéomalacie. De même il existe plusieurs causes de rachitisme ou d'ostéomalacie, mais la principale est d'origine carencielle, due à un effondrement du taux circulant de 25(OH)D. Une concentration de 25(OH)D inférieure à 25 nmol/L (< 10 ng/ml) est constamment retrouvée dans l'ostéomalacie et le rachitisme carenciel (63).

a) Rachitisme et ostéomalacie

L'ostéomalacie (ou le rachitisme chez l'enfant) associe un bas niveau de remodelage osseux, un défaut de minéralisation osseuse et une accumulation de matrice ostéoïde non minéralisée. Ces processus fragilisent l'os, exacerbent l'ostéoporose et favorisent la survenue des fractures.

Les manifestations cliniques d'un déficit en vitamine D sont musculosquelettiques. A côté des troubles purement osseux, les signes de l'hypocalcémie peuvent être la baisse de tonus musculaire, les crises de tétanie et les convulsions.

- le **rachitisme** chez l'enfant est caractérisé par des malformations osseuses, avec retard à l'ossification, fragilisation avec fractures et fissures spontanées, troubles de la marche par faiblesse musculaire, tétanie. Une atteinte du cartilage est également probable. En effet, les chondrocytes expriment le récepteur à la vitamine D. On note des déformations du squelette (crâne, thorax, membres) et une hypotonie générale musculaire avec retard dans l'acquisition de la marche.

- l'**ostéomalacie** chez l'adulte est une ostéopathie étendue à l'ensemble du squelette. La baisse des concentrations extra-cellulaires de calcium et phosphates produit un retard de minéralisation de la matrice conduisant à un excès de tissu ostéoïde (hyperostéoïdose). Le tissu osseux devient fragile et le risque de fracture important (bassin, thorax, membres inférieurs) (64). Figure 13

L'ostéomalacie se manifeste par des symptômes peu spécifiques : asthénie, altération de l'état général, douleurs osseuses diffuses généralisées ou localisées généralement symétriques, douleurs musculaires (myopathie proximale prédominante aux membres inférieurs) d'où des difficultés à la marche. Elle peut être suspectée devant une démarche dandinante avec des mouvements de bascule latérale type "démarche de pingouin" (ou waddling gait). Le passage de la position assise à la position debout est ralenti. Elle peut aboutir à un véritable état grabataire.

b) Ostéoporose

Lorsque le déficit en vitamine D est moins profond, il n'y a pas de défaut de minéralisation osseuse immédiat, mais la tendance hypocalcémique induite stimule la sécrétion de PTH. Calcémie et calcitriolémie seront "normalisées" au prix d'une hyperparathyroïdie secondaire. Celle-ci accroît le remodelage et la fragilité de l'os ce qui, à long terme, contribue finalement à la déminéralisation osseuse, à la diminution de la densité minérale osseuse (DMO) donc à l'ostéoporose du sujet âgé (65). Ce phénomène qui prédomine au niveau de l'os cortical entraîne une augmentation du risque de fracture périphérique, en particulier de l'extrémité supérieure du fémur. Ce risque de fracture est encore aggravé par l'existence de troubles neuromusculaires. Figure 13.

Une définition a été donnée en 1993 par la Conférence de consensus AJM (American Journal of Medicine) : "L'ostéoporose est une maladie généralisée du squelette caractérisée par une diminution de la masse osseuse (aspect quantitatif) et une altération de la micro-architecture du tissu osseux (aspect qualitatif) qui ont pour conséquence une augmentation de la fragilité de l'os et, par conséquent du risque de fracture".

Ainsi, le déficit en vitamine D est responsable directement et indirectement d'un risque fracturaire élevé, ceci surtout en cas d'ostéoporose.

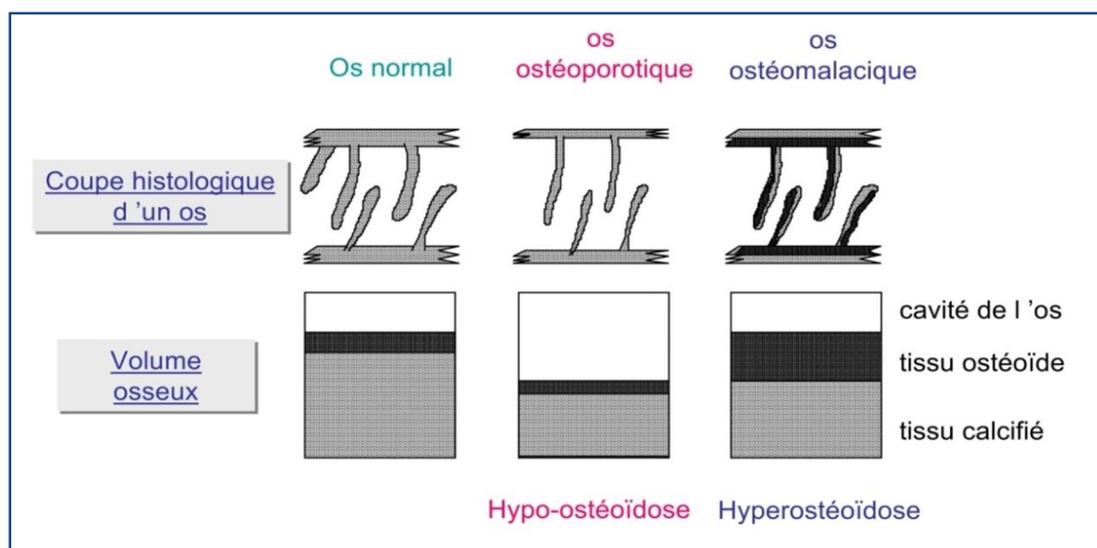


Figure 13 : Conséquences de l'hypovitaminose D sur la structure de l'os (66)

c) Les signes biologiques et radiologiques accompagnant ces pathologies osseuses.

- **ostéomalacie, rachitisme** : le diagnostic positif d'ostéomalacie repose sur un faisceau d'arguments cliniques, mais aussi biologiques et radiologiques :

▫ Biologie :

- Augmentation des phosphatases alcalines : signe constant,
- Effondrement de la 25(OH)D : < 25 nmol/l (10 ng/ml),
- Hypocalcémie variable, la PTH tendant à maintenir une calcémie normale au prix d'une déminéralisation osseuse. Phosphatémie normale ou basse,
- Diminution de la calciurie,
- Augmentation de la PTH dans les formes évoluées.

On peut aussi utiliser des marqueurs osseux comme le CTX. Le dosage de la créatinine peut permettre de calculer le taux de réabsorption des phosphates (TRP).

▫ Radiologie : signes de l'hyperostéïdose

- La radiologie standard montre une déminéralisation importante avec hypertransparence osseuse diffuse, des fissures symétriques ou stries de Looser-Milkman.
- L'ostéodensitométrie retrouve une DMO basse en général.
- La scintigraphie osseuse (non indiquée) retrouve de nombreux foyers d'hyperfixation.
- Le DEXA scan (absorptiométrie biphotonique) est l'examen de choix dans le bilan initial de rachitisme (67).

- **ostéoporose** :

▫ Biologie :

- bilan phosphocalcique standard normal avec diminution de la 25(OH)D
- mesure des marqueurs de la résorption osseuse : hydroxyprolinurie, pyridinoline et désoxypyridinoline, C et T télopeptides collagène type I : CTX ou cross laps et NTX (68).
- marqueurs de la formation osseuse : phosphatases alcalines, ostéocalcine. Les marqueurs osseux ne donnent pas la même information que la mesure de la densité minérale osseuse, donc on ne posera pas de diagnostic d'ostéoporose avec ces seuls marqueurs, mais avec la clinique et la radiologie.

▫ Radiologie : étude de la densité minérale osseuse. L'ostéodensitométrie ou densitométrie osseuse permet de mesurer la DMO et donc d'évaluer la qualité de minéralisation de l'os. Le résultat est baptisé score T (T-score). C'est à partir de ce chiffre que l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a défini l'ostéoporose, selon les grades suivants : Tableau IV

Normal	T score supérieur à -1 écart-type
Ostéopénie	T score compris entre -1 et -2,5 écart-type
Ostéoporose	T score inférieur à -2,5 écart-type
Ostéoporose sévère	T score inférieur à -2,5 écart-type et présence d'une ou plusieurs fractures

Tableau IV : Définition de l'ostéoporose en fonction du T-score

d) Etiologie du rachitisme, ostéomalacie et ostéoporose : la répartition géographique de l'incidence du rachitisme/ostéomalacie est bien connue. Ces pathologies sont plus fréquentes dans les pays recevant un faible ensoleillement. Ces maladies résultent principalement du défaut d'exposition solaire et des carences d'apport alimentaire en vitamine D. (cf chap 5,2) Tableau V.

	ETIOLOGIES	CLINIQUE	RADIOLOGIE	BIOLOGIE
Ostéomalacie Rachitisme	Carence en vitamine D. Vitamino-sensible et curable par l'apport de vitamine D	- souvent rien, - douleurs osseuses - déformations osseuses	Déminéralisation importante, fissures ou stries de Looser-Milkman	- Phosphatases alcalines ↑ - phosphorémie ↓ - calciurie ↓ - vitamine D ↓ - calcémie ↓
Ostéoporose	- Ostéoporose post-ménopausique - Ostéoporose secondaire : hypercorticisme, immobilisation prolongée...	- Passe souvent inaperçue - Tassements vertébraux, fractures (col du fémur)	Déminéralisation osseuse diffuse : mesure de la DMO par ostéo - densitométrie	- Bilan phosphocalcique standard normal - Mesure des marqueurs du remodelage osseux

Tableau V : Récapitulatif des caractéristiques de l'ostéomalacie et de l'ostéoporose

Il existe également des maladies héréditaires du métabolisme de la vitamine D. Le rachitisme pseudo-carenciel de type I ou VDDR1 (pour Vitamin D Dependency Rickets type 1) résulte d'une anomalie de l'expression du gène codant CYP27B1. Le taux de 25(OH)D est alors normal alors que le taux de 1,25(OH)₂D est effondré. Des déformations et douleurs osseuses, un retard de croissance et une myasthénie caractérisent la maladie. L'administration de 1,25(OH)₂D est nécessaire durant toute la vie des personnes atteintes. A l'inverse, le rachitisme pseudo-carenciel de type II résulte d'une anomalie de l'expression du gène codant VDR. Il se caractérise donc par une résistance des organes cibles à l'action de la 1,25(OH)₂D dont le taux est élevé. Ce rachitisme pseudo-carenciel de type II se manifeste par un tableau de rachitisme sévère et précoce. Le traitement consiste en l'administration de doses massives de tous les dérivés de la vitamine D3 et de calcium.

e) Vitamine D, densité osseuse et risque de fractures

La fragilisation de l'os augmente le risque fracturaire et de nombreuses études observationnelles et interventionnelles ont montré une relation entre déficit en vitamine D, DMO basses et risque de fracture (69). Les fractures plus fréquemment retrouvées sont celles de la hanche et de la portion distale du radius ainsi que poignet, avant-bras, vertèbres. La fracture de l'extrémité supérieure fémorale est la plus grave car elle s'accompagne d'une surmortalité dans les années suivantes.

Niveau de preuve sur la densité minérale osseuse

Plusieurs auteurs rapportent une relation positive entre les apports en vitamine D pour optimiser le pic de masse osseuse et la DMO chez les adolescents et les jeunes adultes. D'autres études ont rapporté que la supplémentation entraîne une réduction faible de la perte osseuse chez des sujets âgés (70). L'AHRQ précise que les concentrations de 25(OH)D en dessous desquelles une perte osseuse au niveau de la hanche est augmentée s'étendent de 30 à 80 nmol/l (12 à 32 ng/ml) (50). La HAS ne reconnaît pas d'effet significatif de la supplémentation en vitamine D sur la DMO d'enfants ou d'adolescents en bonne santé (52).

Niveau de preuve sur le risque de fractures

▫ Des études observationnelles ont montré que le risque de fracture non vertébrale augmentait chez les sujets qui avaient des taux bas de vitamine D, notamment inférieur à 50 nmol/l (20 ng/ml) (21); ces sujets avaient une concentration de PTH plus élevée, un temps

d'activités extérieures réduit, une force du quadriceps diminuée et des tests d'équilibre perturbés.

▫ Plusieurs études interventionnelles ont évalué l'effet d'une supplémentation en vitamine D associée ou non à du calcium sur la diminution du risque de fracture périphérique (71). Les résultats de ces études montraient :

- une réduction du risque relatif de fracture quand la dose de vitamine D administrée était supérieure à 800 UI/J (aucun effet anti-fracturaire pour des doses de 400 UI/J (72).

- que cet effet anti-fracturaire était plus prononcé chez les sujets qui avaient une concentration initiale basse en vitamine D.

- que l'association avec du calcium (1200 mg/j) permet de retrouver une corrélation positive avec des doses de vitamine D allant de 400 UI/j à 1 100 UI/j (73).

▫ D'autres études n'ont pas montré d'effets bénéfiques. De plus une étude où une très forte dose de 500 000 UI de vitamine D3 a été administrée annuellement pendant trois ans à des femmes ostéoporotiques a rapporté des résultats négatifs avec un excès de chutes et de fractures (74).

La diminution du risque de fracture serait donc dose-dépendant. Une dose de 800 UI/j au moins serait nécessaire pour réduire le risque relatif des fractures non vertébrales. Le taux de 25(OH)D doit être > à 75 nmol/l (30 ng/ml) pour avoir une corrélation positive (75). Dans ces études, il est assez difficile de distinguer l'effet du calcium de celui de la vitamine D.

L'HAS reconnaît que seule l'association vitamine D + calcium semble donner des résultats modestes sur le risque de fractures non vertébrales (pas sur les fractures vertébrales) et ce dans la population âgée et à risque de fracture (avec faible DMO ou ostéoporose) (53).

f) cas particuliers de populations à risque

- chez les sujets âgés, et plus particulièrement ceux vivant en institution, l'insuffisance en vitamine D n'est pas l'unique responsable de l'ostéoporose mais amplifie le processus. Dans ce contexte, un des facteurs prépondérant de la perte osseuse est bien entendu la carence en œstrogène. L'ostéoporose post-ménopausique touche 30 % des femmes de plus de 60 ans et 50 % des femmes de plus de 70 ans. L'ostéoporose est aussi l'une des responsables de la dépendance fonctionnelle et d'un grand nombre d'hospitalisations pour fractures (chez lesquelles on retrouve une hypovitaminose D dans 97 % cas).

- Dans l'insuffisance rénale chronique (IRC) la perte de masse néphrotique engendre une baisse de la 1,25(OH)₂D : de sa synthèse par diminution de la 1 α -hydroxylase et de son activité par manque de substrat. Une diminution de la 25(OH)D se superpose à la baisse du calcitriol indépendamment du stade de l'insuffisance rénale. Il en résulte un déséquilibre phosphocalcique avec élévation secondaire de la PTH et des désordres du métabolisme osseux appelés "maladie osseuse rénale" (ostéodystrophie rénale). Cet effet apparaît tardivement et est classiquement décrit au cours du stade 3 de l'IRC. Mais dès les stades 1 et 2 une rétention de phosphates apparaît entraînant une augmentation du FGF23, du Klotho et de la PTH (facteurs phosphaturiques). Ce mécanisme adaptatif permet de compenser un temps l'hyperphosphatémie. Mais le taux élevé de FGF23 entraîne une baisse de calcitriol et de PTH et progressivement les mécanismes de compensation sont dépassés.

L'hyperphosphatémie élevée et l'hyperparathyroïdie persistante sont responsables des désordres osseux et extra-osseux dont les calcifications vasculaires diffuses (76). Une ostéomalacie peut apparaître selon le degré d'insuffisance rénale ainsi qu'une ostéoporose avec risque fracturaire élevé et majoré par une carence en vitamine D. L'ostéite fibrokystique reste l'atteinte la plus grave.

3.2 Action pléiotrope : rôles extra-osseux

La répartition géographique traditionnelle de l'incidence du rachitisme et de l'ostéomalacie peut se superposer à certaines pathologies dans lesquelles on pourrait suspecter un déficit en vitamine D. Des études épidémiologiques, observationnelles ou interventionnelles ont été menées dans le but de retrouver une association entre hypovitaminose D et certaines de ces pathologies extra-osseuses, au moins en tant que facteur de risque. Ces études donnent des résultats variables, trop variables pour pouvoir affirmer que le manque de vitamine D est responsable de tel ou tel syndrome : on parlera donc de "risque accru" ou d' "effet modérateur". De plus, les valeurs seuils des taux de 25(OH)D liés à l'apparition ou à l'aggravation des symptômes sont rarement précisées (77-78).

En général les actions autocrines et paracrines sont impliquées dans les effets non classiques. Les cellules concernées possèdent la 1α -hydroxylase et le VDR : fibroblastes, chondrocytes, monocytes-macrophages, kératinocytes, cellules tumorales... Sous l'influence de la vitamine D, de nombreux gènes vont produire dans ces cellules des protéines qui n'ont pas d'action sur le métabolisme phosphocalcique, mais qui pourraient en expliquer les bénéfices extra-osseux. Ainsi ont été répertoriés les effets de la vitamine D dans diverses fonctions de l'organisme (18,54,79-80) :

- neuromusculaires : sur la masse musculaire et la force musculaire
- immunomodulatrices : dans la défense immunitaire contre des agents infectieux, dans certaines maladies auto-immunes ou à composante auto-immune, dans des maladies inflammatoires
- anti-tumorales : différenciation, prolifération cellulaires, angiogenèse, apoptose
- cardiovasculaires, métaboliques (diabète, dyslipidémies)
- ainsi qu'en neurologie, grossesse, développement fœtal ou mortalité.

3.2.1 Action sur le muscle squelettique

La vitamine D joue un rôle dans le métabolisme et la fonction du muscle squelettique. Elle permettrait aussi d'augmenter la force musculaire. Ici aussi, on retrouve :

- une action génomique : la $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ se lie aux VDR des cellules musculaires induisant la synthèse de protéines impliquées dans :
 - le transport intracellulaire du calcium avec augmentation de la disponibilité du calcium cytosolique nécessaire à la contraction et la relaxation musculaires.
 - la régulation du métabolisme local des phosphates.
 - la prolifération et la différenciation des myoblastes avec augmentation de la surface des fibres musculaires de type IIa, cibles de la vitamine D
- une action non génomique, plus rapide sur la contraction musculaire, via un récepteur de surface activant des protéines kinases A et C qui vont favoriser le transport du calcium dans la cellule.
- enfin, elle diminue la synthèse de PTH qui possède des effets directs sur le muscle squelettique en diminuant le transport du calcium.

Conséquences cliniques de l'hypovitaminose D sur le muscle

Chez les sujets carencés on observe une faiblesse musculaire, parfois des myalgies et une prédisposition aux chutes. Ces symptômes se retrouvent dans les néphropathies chroniques, le rachitisme ou l'ostéomalacie carenciels ainsi que dans les situations de malabsorption. C'est cette faiblesse musculaire que l'on retrouve aussi parfois dans la démarche dandinante de l'ostéoporose. Le ralentissement de la marche ou la difficulté à se lever de la position assise augmente le risque de chute et donc de fracture. La vitamine D pourrait ainsi intervenir dans le contrôle postural central.

Niveau de preuve sur la sarcopénie et le risque de chute

De très nombreuses études sont en faveur d'une relation entre concentrations basses en vitamine D, faiblesse musculaire et risque de chute, en particulier chez la personne âgée. L'expression du VDR dans les cellules musculaires diminue avec l'âge sans qu'il ait été démontré de relation entre cette diminution et les concentrations de vitamine D (81).

- Les études d'observation montrent que plus les concentrations en 25(OH)D sont basses, plus les performances fonctionnelles sont diminuées : test de vitesse de marche abaissé et test de capacité à se relever altéré. Entre 40 et 325 nmol/l (16 -130 ng/ml) on obtient les meilleurs résultats de ces performances fonctionnelles. En deçà et au dessus de ces valeurs les performances sont nettement diminuées (82). Une autre étude a montré dans une population de personnes institutionnalisées que les chuteurs avaient un taux sérique en vitamine D plus bas que les non-chuteurs.

- Dans les études interventionnelles, les résultats varient en fonction de l'état de carence initial, de l'âge des sujets, du supplément administré (vitamine D2 ou D3 avec ou sans calcium). Ainsi :

- la supplémentation en vitamine D améliore les performances musculaires des sujets âgés carencés, mesurée par le "time up and go test" (52). Mais la posologie n'est pas clairement établie de même que les concentrations en 25(OH)D à atteindre. Toutefois, l'amélioration des performances fonctionnelles chez les sujets carencés chuteurs reste encore sujet à discussion.

- l'efficacité de la supplémentation est plus marquée pour des doses plutôt élevées, à partir de 800 UI/j, avec un taux initial en 25(OH)D bas, et une concentration à atteindre allant de 60 nmol/l (24 ng/ml) à 100 nmol/l (40 ng/ml). La réduction du risque de chute varie de 6 à 60 % selon les études (83). L'association vitamine D et calcium est plus efficace que le calcium seul ou le placebo pour réduire le risque relatif de chutes chez les personnes âgées. D'autres études montrent que la supplémentation en situation de carence profonde semble corriger en premier lieu les troubles de l'équilibre posturaux plutôt que la force musculaire elle-même.

- la supplémentation engendre une diminution de l'intensité des douleurs musculaires diffuses.

- L'AHRQ en 2009 concluait que la preuve d'une association entre supplémentation en vitamine D et le risque de chute n'était pas établie (84). En 2013, l'HAS reconnaissait l'existence d'un lien entre supplémentation en vitamine D et réduction du risque de chute, chez la personne âgée. Cet effet préventif n'est pas démontré chez l'adulte jeune. Les études ne permettent pas cependant de déterminer la dose précise de vitamine D à administrer ni le seuil de 25(OH)D optimal à atteindre pour obtenir les effets positifs en termes de réduction du risque de chutes (52).

Finalement, on peut conclure que l'hypovitaminose D peut entraîner une augmentation du risque de chute lui-même indissociable du risque de fracture.

3.2.2 Rôle immuno-modulateur

Le rôle de la vitamine D sur le système immunitaire est très vaste, divers et complexe. Elle paraît avoir un rôle de défense contre les différents agents pathogènes auxquels est exposé l'organisme par un effet stimulateur de l'immunité innée. Il semblerait qu'elle soit aussi bénéfique dans un certain nombre de pathologies auto-immunes comme la sclérose en plaque, le diabète de type 1, le lupus érythémateux systémique ou encore la polyarthrite rhumatoïde, via une inhibition de l'immunité adaptative. En parallèle, la vitamine D pourrait réguler l'inflammation lors d'épisodes infectieux, ce qui en limiterait les effets délétères.

Enfin, elle aurait un effet protecteur vis-à-vis de différentes manifestations de l'atopie (rhinite allergique, asthme, dermatite atopique...) (85).

a) mécanisme

Les actions immunomodulatrices de la vitamine D intéressent les cellules de la lignée monocytes-macrophages comme celles des lignées lymphocytaires : les cellules dendritiques et les macrophages expriment le VDR et l'1 α -hydroxylase à l'état basal alors que les lymphocytes T et B ne les expriment essentiellement qu'à l'état activé. Ces cellules vont convertir la 25(OH)D en son métabolite actif qui va agir sur le système immunitaire environnant de façon intracrine, autocrine ou paracrine. La régulation de la 1 α -hydroxylase des cellules immunitaires se fait par des stimuli immunologiques comme l'interféron- γ (IFN γ) ou les lipopolysaccharides (LPS). Tableau VI.

Effecteur de l'immunité	Effets de la vitamine D
Macrophages	<ul style="list-style-type: none"> - activation des gènes de la cathélicidine - activation de l'immunité innée par les défensines - formation des autophagosomes et leur fusion avec les lysosomes dans les macrophages - diminution de l'expression des métalloprotéinases (MMP-7, MMP-9, MMP-10) - inhibition de la COX-2 et l'iNOS entraînant une diminution de PGE2 et du NO
Cellules dendritiques	<ul style="list-style-type: none"> *les cellules dendritiques myéloïdes : - diminution de la fonction de présentation des antigènes - augmentation de la production de l'IL-10, de TGF-β - diminution de la synthèse de l'IL-12 et de l'IL-23 (d'où un blocage de la différenciation en lymphocytes Th1 et Th17) et des IL-17,1 et TNFα - anergie et induction de l'apoptose des lymphocytes T autoréactifs *aucun effet immunomodulateur sur les cellules dendritiques plasmocytoïdes
Lymphocytes B	<ul style="list-style-type: none"> - diminution de la prolifération des lymphocytes B activés exprimant le VDR - inhibition de la différenciation plasmocytaire et par là-même la sécrétion d'IgG et d'IgM, ainsi que la génération de cellules B mémoire - diminution de la production d'IgE par les cellules B humaines - augmentation de l'expression d'IL-10 par les lymphocytes B - effets indirects par action sur les cellules dendritiques
Lymphocytes T (tolérance centrale et périphérique)	<ul style="list-style-type: none"> - augmentation de la production de l'IL-4 et l'IL-5 - diminution de la production de l'IL-2, IL-6, IL-17 et de l'IFNγ

Tableau VI : Les effets de la vitamine D sur les cellules de l'immunité (86)

- action stimulatrice sur l'immunité innée :

- Les monocytes-macrophages surexpriment le VDR et la 1 α -hydroxylase lors de l'exposition à un agent infectieux. De même ils expriment à leur surface des TLR (Toll Like Receptor) appartenant à la famille des récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaires associés aux pathogènes. Lors de la stimulation du TLR par le LPS d'un agent infectieux, la 1,25(OH) $_2$ D produite localement va induire la production de peptides antimicrobiens comme les cathélicidines ou la β 2-défensine, molécules impliquées dans l'élimination du pathogène, bactérien ou viral. Ce mécanisme intracrine se produit dans différents épithéliums, respiratoire notamment (86-87).

- La vitamine D augmente la différenciation des monocytes en macrophages. Elle augmente leur adhérence et stimule leurs activités de cytotoxicité, de phagocytose, diminue leur production de cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-6, IL-12, IFN γ et TNF α) et de radicaux libres H $_2$ O $_2$. Elle induit l'autophagie des macrophages humains contre les pathogènes opportunistes et ce de façon dose-dépendante.

- action suppressive sur l'immunité adaptative :

▫ Cette action s'applique majoritairement sur les cellules cibles du calcitriol qui sont les cellules dendritiques myéloïdes. Il va leur donner un profil tolérogène durable selon différents mécanismes :

- blocage de la maturation et des capacités de stimulation des cellules dendritiques d'origine monocytaire ainsi que de leurs propriétés fonctionnelles (chimiotactisme, présentation des antigènes, inhibition de la sécrétion d'IL-12).

- en diminuant l'expression des molécules du CMH de classe II et des molécules de co-stimulation comme CD40, CD80 et CD86, les différentes catégories de cellules dendritiques vont être programmées par la vitamine D pour induire différents types de cellules T régulatrices (Treg) sécrétrices de cytokines suppressives, soit de TGFβ (Transforming Growth Factor β1), soit d'IL-10 .

- Ceci oriente la réponse lymphocytaire : 1/ vers la voie des T effecteurs (ou helpers) Th2 et des Treg qui favorisent la tolérance immunitaire.

2/ vers un blocage de la différenciation en Th1 (donc diminution d'IL-2, IFNγ et TNFα) et en Th17 d'où une diminution de leur rôle pro-inflammatoire.

- Par un effet boucle, la diminution de l'IL-2 inhibe la prolifération des cellules T induite par l'activation du TCR ("T cell receptor"). En atténuant la prolifération des lymphocytes T CD4 et CD8, elle diminue la cytotoxicité de ces cellules. De même, la sécrétion d'IL-4 par les Th2 diminue la capacité des monocytes à activer les cellules T (effets supresseurs sur l'auto-immunité).

- Le calcitriol inhibe au niveau des cellules dendritiques l'expression des TLR et leur activation par les LPS après qu'ils aient stimulé l'expression du VDR. Cela permet de maîtriser la réaction en chaîne induite par la stimulation microbienne. Ceci permet d'atténuer une réponse exagérée et l'induction d'un état inflammatoire trop important en phase terminale des épisodes infectieux.

▫ La vitamine D a aussi une action directe sur les cellules T par l'intermédiaire des interleukines : elle augmente la sécrétion des IL anti-inflammatoires 5, 10 et diminue la production des IL pro-inflammatoires 2, 6, 12, 17, 21, 22, 23, IFNγ, TNFα.

▫ La vitamine D freine également la réponse humorale en inhibant également la différenciation plasmocytaire, la prolifération des lymphocytes B et donc la sécrétion des anticorps : diminution des IgG, IgM et plus particulièrement celle des IgE et donc diminue les phénomènes d'allergie IgE-dépendante. Ceci tend à renforcer le rôle joué par la vitamine D dans les pathologies auto-immunes associées à l'immunité humorale.

Le calcitriol exerce donc des actions suppressives et polarisantes qui aboutissent au recrutement de lymphocytes T moins répondeurs, moins spécifiques et sécrétant moins d'interféron γ. Il modifie l'équilibre lymphocytaire vers une dominance Th2 contre Th1. Ces actions contribuent à expliquer la capacité de la vitamine D à supprimer les phénomènes d'auto-immunité induits par la réponse de type Th1. Par contre l'augmentation de la synthèse de TGFβ1 (considéré comme élément anti-rejet) et d'IL4 (régulateur de l'immunité humorale et adaptative) sous l'effet de la vitamine D expliquerait ses effets immuno-modulateurs qui nécessitent eux aussi la présence de calcium.

De nombreuses études ont essayé de démontrer le rôle de la vitamine D comme immuno-modulateur et anti-infectieux sur des modèles animaux ou humains. En voici quelques exemples.

b) Rôle anti-infectieux

Un taux bas de 25(OH)D est corrélé avec un risque accru de développer une infection qu'elle soit virale (virus respiratoires, VIH, hépatites), bactérienne (*S. aureus*, *S. pyogenes*, *E. Coli*, *K. pneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica*, mycobactéries...), parasitaire ou fongique.

Une incidence probante de l'hypovitaminose D sur des pathologies du tractus respiratoire : la 1 α -hydroxylase et le VDR sont exprimés dans l'épithélium respiratoire. Le calcitriol produit in situ va augmenter l'expression des co-récepteur CD14, β -défensine et cathélicidine.

▫ La cathélicidine LL-37 jouerait un rôle clé dans la défense cellulaire contre *Mycobacterium tuberculosis*. Le bacille tuberculeux résidant dans les phagosomes macrophagiques bloque l'autophagie et la vitamine D peut moduler cet effet. Avant l'émergence des premiers antibiotiques, la tuberculose cutanée était traitée avec succès par la lumière à ultra-violets. Une relation entre la fréquence de la tuberculose et des concentrations basses de 25(OH)D a été retrouvée dans des études épidémiologiques. *In vivo*, l'augmentation du taux de vitamine D à plus de 75 nmol/l (30 ng/ml) chez les patients tuberculeux accélérerait la négativation des expectorations (88). Mais aucune étude ne précise le seuil en 25(OH)D requis pour prévenir une infection à *M. tuberculosis* et cette association n'est pas confirmée dans les méta-analyses d'études d'intervention.

▫ Des taux bas de 25(OH)D, notamment en hiver, favoriseraient le risque de contracter certaines infections virales respiratoires comme la grippe (89) et une supplémentation à fortes doses durant les mois d'hiver entraînerait une réduction significative de ces infections.

▫ Les manifestations pulmonaires du rachitisme avaient reçu l'appellation de "poumon rachitique" pour définir les infections bronchiques aiguës avec parfois détresse respiratoire observées lors des déficits profonds en vitamine D.

▫ Un déficit en vitamine D serait associé chez le nouveau-né à un risque plus élevé de bronchiolite à VRS

▫ La carence en vitamine D est très fréquente dans la bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) et elle est corrélée avec la sévérité de la maladie.

▫ Certaines études d'intervention sur les infections du tractus respiratoire en population générale et pédiatrique ont montré un effet statistiquement significatif d'une supplémentation en vitamine D (de 400 à 2000 UI/j), mais sans déterminer un seuil précis de 25(OH)D.

On peut citer d'autres cibles de la vitamine D en dehors des voies respiratoires : dans les infections chroniques VIH ou VHC, les résultats des études sont contradictoires et peu concluants. Une supplémentation en cholécalciférol permettrait un meilleur contrôle du taux de lymphocytes T CD4. Enfin de faibles taux de 25(OH)D favoriseraient le passage de la séropositivité pour le VIH au stade SIDA. Mais les études d'intervention ne rapportent pas d'effets positifs de la supplémentation sur la variation ni de la charge virale ni sur le taux de CD4. Cependant certains antirétroviraux comme l'Efavirenz® ou Ténofovir® entraînent une baisse de la concentration sérique de 25(OH)D (90). Il est donc recommandé de doser la vitamine D au cours du suivi des patients HIV.

Chez les patients atteints d'hépatite C chronique (VHC), une concentration sérique basse en vitamine D est associée à un score de fibrose plus élevé et à un plus faible pourcentage de réponse virologique prolongée sous traitement antiviral.

En conclusion, la plupart des études sont en faveur d'une association entre le statut vitaminique D, la susceptibilité aux infections et leur évolution. Ainsi, l'HAS reconnaît un lien entre vitamine D et infections du tractus respiratoire. Mais la démonstration qu'un supplément en vitamine D réduit chez l'homme le taux d'infections virales, bactériennes et parasitaires reste encore à apporter.

c) Rôle dans l'auto-immunité

De nombreuses études épidémiologiques montrent une relation entre une plus grande fréquence de certaines maladies auto-immunes, diabète de type-1, sclérose en plaques (SEP), polyarthrite rhumatoïde (PR), lupus systémique et, soit de faibles apports de vitamine D, soit des concentrations basses de 25OHD. Les actions immunosuppressives de la 1,25(OH)₂D justifient son utilisation thérapeutique dans le contrôle des maladies auto-immunes et le rejet des allogreffes.

- Le lupus érythémateux disséminé ou systémique (LED ou LES)

Le LES est une maladie auto-immune caractérisée par une hyperactivité des lymphocytes B et un taux élevé d'IFN α . *In vitro*, l'exposition de cellules mononucléées LED+ au calcitriol ou à ses analogues, peut réduire la différenciation lymphocytaire B et freiner la production d'IgG polyclonales et d'IgG anti-ADN natif. Les patients carencés en 25(OH)D ont aussi une activité sérique interféron plus élevée.

Les études épidémiologiques montrent une corrélation positive entre fréquence du LES et latitude élevée ou taux bas de vitamine D (91). Plusieurs travaux récents rapportent une corrélation inverse entre le taux de 25OHD et l'activité du lupus.

Des études interventionnelles ont montré que l'apport de fortes doses de vitamine D à des patients lupiques augmentait le taux de lymphocytes T régulateurs et réduisait le taux de lymphocytes Th1 et Th17 circulants, ou que cet apport à des patients lupiques carencés (25(OH)D < 30 ng/ml) diminuait le score de fatigue.

- La polyarthrite rhumatoïde (PR) et maladie de Behçet (MB)

La polyarthrite rhumatoïde est une maladie systémique complexe caractérisée par des rhumatismes inflammatoires chroniques (les chondrocytes expriment le VDR). La MB est une vasculite multisystémique caractérisée par un taux élevé de TNF α . Elles ont comme caractéristique commune d'être des maladies auto-immunes Th1. Un déséquilibre de la balance Th1-Th2 entraîne un déséquilibre entre cytokines pro-inflammatoires et anti-inflammatoires. Du fait de ses activités immuno-modulatrices et anti-inflammatoires (inhibition des Th1, stimulation des Th2, diminution de la production d'immunoglobulines du type facteur rhumatoïde), la vitamine D a probablement un rôle à jouer dans l'évolution de cette maladie. Mais les données expérimentales actuelles ne suffisent pas pour expliquer le mécanisme en cause.

Des études transversales ont montré que des taux bas de 1,25(OH)₂D étaient associés à une augmentation du risque de poussées au cours de la polyarthrite rhumatoïde ou au plus grand nombre d'articulations douloureuses (92). D'autres études ne montrent pas de relation entre des apports élevés en vitamine D et la diminution du risque d'être atteint d'une polyarthrite rhumatoïde ou d'un lupus systémique.

- La sclérose en plaques

Les arguments suggérant que le manque de vitamine D contribue à la pathogénie de la SEP sont multiples: expérimentaux, épidémiologiques, génétiques, immunologiques et thérapeutiques. Les mécanismes de protection de la 1,25(OH)₂D vis-à-vis de l'EAE (encéphalomyélite auto-immune expérimentale, modèle murin de la SEP) sont l'induction de cellules T régulatrices et de cellules Th2 et la suppression de cellules Th1 et Th17 réduisant les phénomènes inflammatoires. Le rôle bénéfique du calcitriol sur ce modèle expérimental a été démontré.

Des études sur la sclérose en plaques ont montré un lien entre statut vitaminique D et risque de développer une SEP (93). Un taux plasmatique bas de 25(OH)D est rapporté chez des sujets atteints de SEP. De même le degré de latitude conditionne le risque de développer une SEP. Une diminution du risque ou un effet bénéfique est apparu pour des taux de 25(OH)D supérieurs à 100 nmol/l (40 ng/ml) ou pour des apports de l'ordre de 400 UI/j avec une diminution significative de la fréquence des poussées et ralentissement de la progression du handicap. Des résultats contradictoires ont cependant été observés. Cependant l'ANM préconise de maintenir des taux de 25(OH)D légèrement supérieurs à 100 nmol/l chez les patients atteints de SEP (49).

- Le diabète de type I (DT1) : Le diabète de type 1 d'origine auto-immune est lié à une insulite impliquant différents types d'anticorps. Les propriétés immuno-modulatrices de la vitamine D pourraient agir comme agent immunosuppresseur réduisant la prolifération lymphocytaire anormale et la production de cytokines au niveau du pancréas.

Les études observationnelles suggèrent une corrélation inverse entre l'incidence de la maladie et l'exposition à la lumière du soleil. Des études expérimentales ont montré que l'administration de vitamine D semble empêcher ou retarder le développement du DT1 chez l'animal. Des études ont montré une réduction de 80 % à 90 % du risque de développer un diabète de type I chez les enfants supplémentés dès la naissance par la vitamine D (2 000 UI/j) (94). En revanche d'autres études d'intervention n'ont pas mis en évidence une telle association.

- On peut citer encore des études portant sur une association éventuelle entre la vitamine D et le syndrome des antiphospholipides (SAPL), la sclérodermie systémique, la connectivite indifférenciée ou les vascularites cryoglobulinémiques avec des résultats variables.

d) Rôle anti-inflammatoire

La vitamine D induit une diminution de la réponse inflammatoire locale et systémique par régulation de la production de cytokines (95).

- l'asthme est une maladie inflammatoire chronique. Les bases immunologiques de l'asthme sont le résultat d'une réponse inappropriée des lymphocytes Th2 à l'égard des antigènes inoffensifs, communs, qui induisent la production d'IgE en plus d'une inflammation à éosinophiles des voies aériennes et de l'hyperréactivité bronchique. Un déficit précoce en vitamine D serait associé à un risque augmenté d'asthme et chez les enfants asthmatiques, un déficit en vitamine D serait également un facteur associé à une augmentation de la fréquence des exacerbations. Bien que la plupart des études soutiennent un effet protecteur de la vitamine D, il en existe d'autres indiquant qu'une supplémentation en vitamine D peut, au contraire, être un facteur de risque d'asthme. Plus généralement elle aurait des effets bénéfiques sur l'obstruction des voies aériennes par la diminution de l'inflammation (96). Toutefois, un excès de vitamine D serait néfaste pour l'asthme.

- dans les maladies allergiques : Il a été montré que de nombreux gènes associés à l'allergie sont plus ou moins régulés par la vitamine D. Un déficit en vitamine D a été associé à l'atopie chez les enfants et les adolescents. De nombreuses études traitent de la relation entre développement et aggravation des maladies allergiques et taux sérique de vitamine D. Le risque d'allergie alimentaire, de dermatite atopique, de rhinite allergique et d'asthme paraît majoré par un statut vitaminique D bas. Les résultats ont été jugés "statistiquement non significatifs" dans le rapport de l'HAS (52).

- maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI).

Le mécanisme impliqué dans la maladie de Crohn porterait sur un déficit de l'immunité innée intestinale. Le calcitriol stimule l'expression du gène NOD2 (retrouvé dans les macrophages, les cellules dendritiques, les cellules épithéliales intestinales et les cellules de Paneth) entraînant une synthèse de peptides antimicrobiens et l'activation de l'autophagie visant l'élimination des bactéries intestinales. Il stimule également l'expression du gène codant pour la β 2-défensine participant ainsi au bon fonctionnement de la barrière antimicrobienne constituée par la muqueuse intestinale.

Certaines études sont en faveur d'une relation entre les concentrations de vitamine D et le risque de maladie inflammatoire chronique de l'intestin. La prévalence de la carence en vitamine D chez les patients ayant une entérocolopathie inflammatoire est importante. Des études expérimentales ont montré que la maladie intestinale inflammatoire était accélérée par la carence en vitamine D, mais l'interprétation est difficile du fait de la possible malabsorption et des traitements immuno-suppresseurs administrés dans ces pathologies.

- effet de la vitamine D sur le périodonte

La périodontite est une affection chronique inflammatoire du périodonte fréquente chez les sujets âgés, responsable de la perte des dents. Des études ont montré un lien entre l'ostéoporose et la perte des dents. Des concentrations de $25(\text{OH})\text{D} \geq 100 \text{ nmol/l}$ (40 ng/ml) réduisent le risque de perte des dents liée à la périodontite chez les sujets âgés (97). En période néonatale, une carence en vitamine D peut être responsable d'un défaut de minéralisation des premières dents.

- vitamine D et arthrose : Les chondrocytes expriment le VDR et une carence en vitamine D peut augmenter le catabolisme du cartilage. Par ses actions sur le collagène de type II, la vitamine D influencerait sur la survenue de l'arthrose ainsi que sur son évolution. Mais les résultats contradictoires provenant de différentes études ne permettent pas de conclure sur l'effet de la vitamine D sur l'arthrose (en particulier du genou et de la hanche).

- au niveau cutané : La vitamine D participe au maintien de l'intégrité du tissu cutané en agissant sur la synthèse d'involucrine, une protéine majeure de la membrane cornée des kératinocytes. Le calcitriol exerce un effet anti-prolifératif et pro-différenciant sur les kératinocytes, grâce au recrutement de co-régulateurs qui interviennent selon le stade de maturation du kératinocyte. Après stimulation par des signaux cytokiniques (comme l'IFN γ et le TNF), la 1α -hydroxylase et les VDR présents dans les kératinocytes permettent la synthèse de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ qui va majorer l'expression et la fonction des β -défensines et cathélicidines dont la cathélicidine LL-37 qui possède une activité anti-microbienne. De même le calcitriol bloque la réaction inflammatoire cutanée par l'inhibition des lymphocytes Th1. Son action permettrait d'expliquer le rôle de la vitamine D dans l'évolution du psoriasis (98). Des crèmes à base d'analogues de la vitamine D (Daivobet®) ou la photothérapie diminuent l'hyperprolifération des kératinocytes et l'inflammation dans le psoriasis.

Depuis les années 1970 l'effet thérapeutique de la vitamine D et des dérivés hydroxylés a été démontré dans diverses dermatoses : psoriasis, sclérodémie, eczéma, acné, lupus.

Au niveau cutané elle interviendrait aussi dans le cycle de renouvellement des cheveux et des taux bas de $25(\text{OH})\text{D}$ sont retrouvés dans les alopecies.

e) Vitamine D et rejet de greffe

Par ses effets immunomodulateurs, notamment la diminution de la réponse Th1 et l'induction vers les cellules T régulatrices, la vitamine D pourrait ouvrir la voie à de nouvelles thérapeutiques pour le rejet de allogreffes.

L'administration de vitamine D ou d'un de ses analogues moins hypercalcémiant permet en effet de prolonger chez l'animal la survie d'hétérogreffes de peau, de cœur, d'îlots de Langerhans, de foie (99). Des données expérimentales montrent que des patients traités par calcitriol présentaient moins d'épisodes de rejet aigu.

En conclusion, les relations entre vitamine D et système immunitaire sont complexes et loin d'être encore complètement élucidées. Son rôle immunomodulateur associant une activation des systèmes de défense immunitaire non spécifiques et une inhibition des systèmes antigènes spécifiques permet d'expliquer que la carence en vitamine D pourrait être un des facteurs impliqués dans la pathogénie des maladies auto-immunes. Les études épidémiologiques sur l'effet préventif d'un apport en vitamine D nécessitent d'être confirmées pour connaître le seuil au-delà duquel l'effet de la vitamine D est observé et pour évaluer le rôle thérapeutique éventuel de la vitamine D en pratique clinique concernant les infections, les maladies auto-immunes et le rejet de greffe.

Pour l'IOM et la HAS les données concernant ces maladies ne sont pas suffisamment étayées et les niveaux de 25(OH)D à atteindre pour obtenir un effet protecteur ne sont pas définis (48,53)

3.2.3 Action sur la prolifération et la différenciation cellulaires

La vitamine D intervient dans la régulation de la prolifération cellulaire, de la différenciation cellulaire, de l'apoptose et de l'angiogenèse. L'effet anti-tumoral résulterait de la régulation par la 1,25(OH)₂D de gènes impliqués dans la prolifération de certaines lignées tumorales exprimant le VDR (mélanome, du carcinome mammaire, de la leucémie myéloïde chronique, de l'adénocarcinome colique, utérin, prostatique et vésical (80).

Mécanismes impliquant le calcitriol :

- il inhibe la prolifération des cellules cancéreuses contenant le VDR en les bloquant en phase G1. Ceci passe par la stimulation de la synthèse des protéines kinases inhibitrices du cycle cellulaire, la p21 et la p27 et par l'inhibition de l'activité transcriptionnelle de la β -caténine.
- il diminue la production et l'action de certains proto-oncogènes (c-myc et c-fos). Cela suggère que la vitamine D est capable de ralentir l'évolution des cellules précancéreuses en cellules malignes.
- il peut favoriser l'apoptose de certaines cellules cancéreuses en bloquant la production de la protéine anti-apoptotique, la Bcl-2. Il est susceptible de réduire l'angiogenèse péri-tumorale et le risque de dissémination métastatique en augmentant l'adhérence et la communication intercellulaires par stimulation de l'expression d' E-cadhérine et diminution de la β -caténine.
- il réduirait l'expression de l'aromatase (enzyme catalysant la synthèse d'œstrogènes dans le cancer du sein), de façon directe en réprimant la transcription de l'enzyme et de façon indirecte en réduisant la synthèse de prostaglandines, stimulateurs majeurs de la transcription de l'aromatase.
- à noter le cas particulier de la détoxification colique des xénobiotiques : le calcitriol lié au VDR régule la transcription du gène CYP3A4, qui intervient dans la détoxification de l'acide lithocholique, acide biliaire secondaire carcinogène produit par la flore bactérienne digestive.

Des études observationnelles montrent un effet protecteur de la vitamine D contre la survenue de certains cancers (colorectal, prostate, pancréas, sein, poumons, lymphome non hodgkinien...mélanome exclus) et une diminution de la mortalité liée au cancer. On retrouve également une augmentation du risque de cancer chez les personnes vivant à des latitudes élevées. D'autres études ne retrouvent pas de relation, voir des relations inverses.

Des études interventionnelles ont montré une réduction significative du risque de cancer (tous cancers confondus) chez les femmes ménopausées supplémentées en vitamine D (100). D'autres études ne confirment pas cet effet, et, dans l'ensemble, pour les cancers de l'endomètre, de l'œsophage, de l'estomac, des reins, des ovaires, du pancréas et les lymphomes non hodgkiniens, il n'a pas été retrouvé d'association. Les études à retenir retrouvant une relation négative concernent les cancers colorectaux et secondairement ceux du sein et de la prostate.

Cependant, le seuil de 25(OH)D à atteindre pour une diminution de risque du cancer varie d'une étude à l'autre. Par exemple pour atteindre une diminution de 50 % du risque cancéreux, il faut atteindre des taux > 50 nmol/l (20 ng/ml) pour la prostate, > 58,4 nmol/l (23 ng/ml) voire > 80 nmol/l (32 ng/ml) pour le colon et > 130 nmol/l (> 52 ng/ml) pour le sein (impliquant une forte supplémentation en vitamine D) Dans d'autres études on retrouve une diminution du risque mais avec des seuils différents de 25(OH)D à atteindre. Par exemple dans une étude chez des femmes ménopausées l'augmentation du taux de 25(OH)D de 70 à 95 nmol/l (28 à 38 ng/ml) a un effet significatif sur la réduction du risque de cancer (donc pour des taux plus élevés que ceux habituellement recommandés).

Malheureusement dans une grande partie de ces études, la relation vitamine D - risque cancéreux est un paramètre secondaire. Par ailleurs, elle ne permettent pas de savoir si un statut vitaminique D "insuffisant" augmente le risque de cancer ou témoigne seulement d'un mauvais état général des personnes à risque de cancer. Bref l'effet anti-tumoral fréquemment décrit reste très controversé (2).

L'HAS dans son rapport n'a retenu, d'après les études observationnelles, qu'une seule association sur l'incidence du cancer colorectal. Mais celle-ci n'est pas confirmée dans les études d'intervention. Aucune cible n'a pu être identifiée pour réduire le risque de cancer colorectal et l'intérêt d'une supplémentation n'a pas été clairement démontré (53).

D'autres études se sont intéressées à la relation entre la vitamine D et la vitesse de progression du cancer, son pronostic et sa mortalité. Des données émergentes montrent l'intérêt de la vitamine D et de son dosage dans l'amélioration des effets indésirables de traitements du cancer (douleurs musculo-squelettiques et fragilité osseuse).

3.2.4 Vitamine D et risque cardiovasculaire

Le déficit en vitamine D serait associé à une augmentation des risques cardiovasculaires et des artériopathies périphériques comme l'athérosclérose coronaire (101).

Les mécanismes d'action de la vitamine D sur le système cardiovasculaire sont complexes, avec :

- des effets directs liés au VDR et la 1α -hydroxylase exprimés par les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses et les cardiomyocytes.

▫ Le calcitriol inhibe la prolifération des cardiomyocytes, module leur contractilité en réduisant l'influx calcique cellulaire.

▫ Il inhibe la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires et l'expression du facteur de croissance de l'endothélium vasculaire, le VEGF (Vascular Endothelial Growth

Factor). Ainsi, il réduit la fibrose vasculaire et les effets athéromateux.

- Il favorise la régression de l'hypertrophie ventriculaire gauche en inhibant la synthèse et la libération du facteur natriurétique atrial.

- des effets indirects :

- une action inhibitrice sur le système rénine-angiotensine (SRA) en diminuant l'expression du gène codant pour la rénine, ce qui fait diminuer la tension artérielle. Le calcitriol pourrait être considéré comme un régulateur endocrine négatif du système rénine-angiotensine.

- des effets immunosuppresseurs et anti-inflammatoires en diminuant la production de cytokines pro-inflammatoires (TNF α), l'activation du NF-kb, l'expression de la cyclo-oxygénase 2, et la prolifération des lymphocytes impliqués dans l'athérogenèse. D'où des effets préventifs sur la plaque d'athérome en diminuant son épaisseur et son instabilité. Elle augmenterait aussi la production de cytokines anti-inflammatoires IL-10.

- sur les calcifications vasculaires : avec la réduction des MMP-2 et MMP-9 promoteurs de calcification. Il existe un effet biphasique de la vitamine D sur le risque de calcification vasculaire : ce risque augmente quand les taux de 25(OH)D sont bas mais aussi quand ils sont trop élevés du fait de l'hypercalcémie. Cependant les seuils restent à déterminer et le rapport bénéfice/risque à évaluer.

- un effet préventif sur les autres facteurs de risque cardiovasculaire comme l'insuffisance cardiaque, l'hyperparathyroïdie secondaire, le diabète de type 2, la protéinurie, l'obésité, la dyslipidémie.

Les études cliniques peuvent porter sur plusieurs paramètres : pression artérielle, coronaropathie, artériosclérose, mortalité cardiovasculaire et événements cardiovasculaires comme infarctus du myocarde, accident vasculaire cérébral, cardiopathie ischémique, angor, insuffisance cardiaque...

- les études d'observation rapportent des associations entre taux bas de 25(OH)D et :

- risque d'hypertension. Il existe une relation inverse entre le taux de 25(OH)D et la pression artérielle ou les taux de rénine plasmatique.

- survenue d'événements cardiovasculaires majeurs (infarctus du myocarde, accident vasculaire cérébral, insuffisance cardiaque, coronaropathies) (102)

- autres facteurs de risque cardiovasculaire : athérome, diabète, obésité, dyslipidémie

- risque relatif augmenté de mortalité cardiovasculaire.

- les études d'intervention : il n'y a pas d'études d'intervention montrant que l'apport en vitamine D diminue les événements cardiovasculaires majeurs et les décès par causes cardiovasculaires. En revanche, il existe plusieurs études d'intervention qui relatent des modifications favorables sur des paramètres intermédiaires liés aux risques cardiovasculaires (dus aux effets indirects de la vitamine D). Ces essais d'intervention avec des apports de vitamine D allant en général de 400 à 1 000 UI/j associé ou non à du calcium ont donné des résultats contradictoires.

- sur la diminution de la tension artérielle : certains essais avec exposition aux UVB et/ou prise de vitamine D (\pm calcium) montrent une réduction significative de la pression artérielle avec des effets sur la rigidité artérielle. Dans ces études la dose de vitamine D doit être supérieure à 400 UI/j ou le taux de 25(OH)D > 150 nmol/l (60 ng/ml) pour retrouver une corrélation. Un essai a suggéré que la forme native donnerait de meilleurs effets sur la pression artérielle que les composés actifs. Le lien entre hypertension et vitamine D apparu dans les études observationnelles n'est que partiellement confirmé dans les études avec supplémentation (pression systolique uniquement, effet dose et uniquement dans une

population d'hypertendus) mais il ne permet pas de définir un seuil de 25(OH)D à atteindre pour réduire la tension artérielle ou l'incidence de l'hypertension artérielle.

- sur la diminution de l'inflammation et l'amélioration de la fonction endothéliale : des études interventionnelles ont donné quelques résultats positifs sur la réduction de la concentration en cytokines pro-inflammatoires dans l'insuffisance cardiaque avec une amélioration de la fonction endothéliale chez des sujets carencés en vitamine D. Les effectifs de ces études étant très restreints, on ne peut conclure sur un lien de causalité entre hypovitaminose D et anomalies vasculaires.

- sur d'autres paramètres facteur de risques cardiovasculaires : diminution de la résistance à l'insuline, diminution de la PTH, réduction de la protéinurie ou de l'hypertrophie ventriculaire gauche chez des sujets insuffisants rénaux ou dialysés.

Pour pouvoir évaluer les effets cardiaques potentiellement bénéfiques de la vitamine D, il faudra attendre les résultats d'études prospectives randomisées incluant de plus larges effectifs et prenant en compte pour objectif principal l'apparition ou le pronostic d'affections cardiovasculaires, après ajustement des facteurs confondants : obésité, sédentarité, consommation d'alcool ou de tabac (tous facteurs de risque cardiovasculaires et souvent liés à une carence en vitamine D).

3.2.5 Vitamine D et maladies métaboliques

Le syndrome métabolique est défini selon l'OMS (1998) comme

- un trouble glycémique (diabète de type 2, intolérance au glucose ou hyperglycémie modérée à jeun) et au moins deux des quatre critères ci-après, ou,
- si la tolérance au glucose est normale, une insulino-résistance et au moins deux des quatre critères suivants : hypertension artérielle, dyslipidémie, obésité abdominale, microalbuminurie.

a) Diabète de type 2 (DT2)

Ce type de diabète relève d'une résistance des tissus cibles (foie, muscles et tissu adipeux) à l'action de l'insuline avec pour conséquence un accroissement de la sécrétion d'insuline. L'évolution du DT2 s'accompagne d'une dysfonction des cellules bêta de Langerhans avec réaction inflammatoire, puis d'un déficit de l'insulinosécrétion entraînant un DT2 insulino-requérant. La vitamine D pourrait agir sur le métabolisme glucidique soit de façon directe via son récepteur, soit par voie non génomique, et ce à plusieurs niveaux (103) :

a.1/ sur la cellule β de Langerhans : l'insulinosécrétion

Le calcitriol apporté par la circulation ou synthétisé localement agit sur la sécrétion de l'insuline

- directement par la stimulation de la sécrétion d'insuline : les cellules β possèdent VDR et CYP27B1 et le promoteur du gène de l'insuline exprime VDRE. D'autre part, il augmente la longévité de la cellule β par l'inactivation du facteur nucléaire NF-kb responsable de la transcription des cytokines apoptotiques.

- par deux actions indirectes :

- la régulation du flux calcique à travers la cellule β : la sécrétion d'insuline étant un processus dépendant du calcium, l'augmentation de la concentration du calcium intracellulaire favorise l'insulinosécrétion (endopeptidase calcium dépendante).

- la modulation de l'activité de la calbindine : cette protéine cytosolique des cellules β favorise l'exocytose calcium-dépendante des vésicules d'insuline. La calbindine protège également contre l'apoptose par un effet tampon du calcium intracellulaire (l'apoptose étant dépendante de la concentration en calcium) Figure 14.

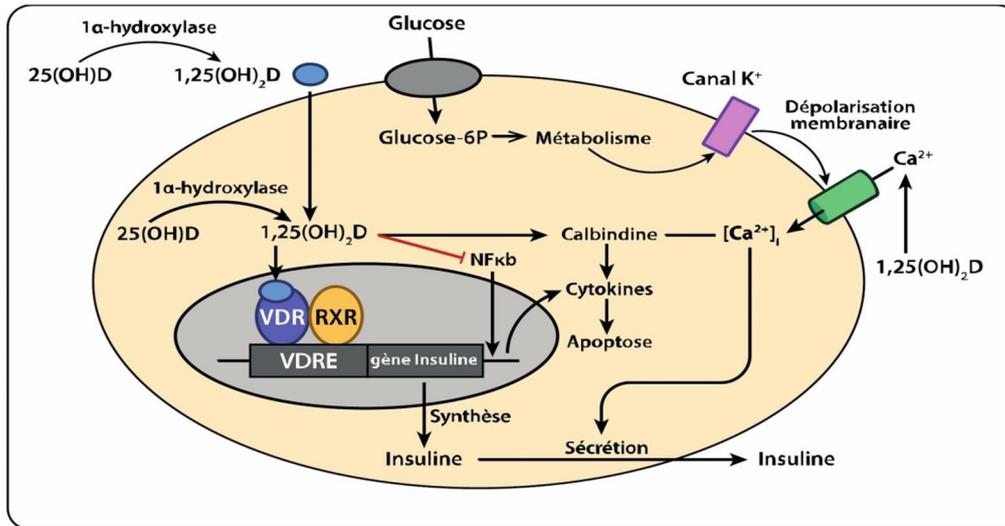


Figure 14. Mécanismes d'action de la vitamine D sur la sécrétion d'insuline au niveau de la cellule β pancréatique (103)

a.2/ sur les tissus périphériques : l'insulinorésistance

La vitamine D joue un rôle direct au niveau de la sensibilité des tissus à l'insuline :

- elle stimule la transcription génique (via les VDRE) et l'expression des récepteurs à l'insuline au niveau des tissus cibles périphériques.
- elle facilite le transport intracellulaire du glucose en réponse à l'insuline par une externalisation plus importante des transporteurs du glucose insulinodépendants.
- elle active le facteur de transcription PPAR γ (Peroxisome Proliferator Activated Receptor gamma), impliqué dans la régulation du métabolisme des acides gras au niveau des tissus adipeux et musculaire (tissus possédant le VDR) améliorant ainsi la sensibilité de ces tissus à l'insuline.

En modulant les flux calciques, la vitamine D régule aussi la réponse tissulaire à l'insuline (notamment dans le muscle squelettique et le tissu adipeux). Ainsi elle améliore la sensibilité post-prandiale à l'insuline chez les sujets susceptibles de présenter une insulinorésistance.

a.3/ sur la composante inflammatoire du diabète de type 2

Le DT2 est associé à une inflammation systémique qui serait impliquée dans l'insulinorésistance, en particulier dans la captation du glucose. Si les taux de cytokines sont trop élevés, celles-ci peuvent en déclenchant l'apoptose des cellules β pancréatiques provoquer une insulino-déficience. De ce fait, la vitamine D pourrait diminuer l'insulinorésistance et favoriser la survie des cellules β en ayant des effets sur les cytokines par différents mécanismes :

- Des VDRE ont été identifiés dans le promoteur des gènes de cytokines. Ainsi, la vitamine D interférerait avec les facteurs de transcriptions impliqués dans la production nucléaire des cytokines.
- par son action d'inhibition sur le facteur NF- κ b qui est un élément majeur dans la régulation des cytokines pro-inflammatoire.

a.4/ sur les autres conséquences du diabète

- complications cardiovasculaires : de même, de par ses interactions avec le système Rénine-Angiotensine (SRA), la vitamine D est impliquée dans l'insulinorésistance (l'angiotensinogène 2 inhibe l'action de l'insuline sur le tissu vasculaire et le muscle squelettique, ce qui altère le captage du glucose au niveau de ces cellules).

▫ diabète gestationnel : - lors d'études observationnelles sur des femmes enceintes : des taux bas de 25(OH)D sont associés à un risque plus élevé de diabète gestationnel et d'intolérance au glucose.

- lors d'études d'intervention sur des femmes avec un diabète gestationnel : augmentation de la sensibilité à l'insuline par des apports de vitamine D.

▫ effets néphroprotecteurs : d'après des études observationnelles, le calcitriol et ses analogues (calcitriol, paricalcitol qui est un agoniste du VDR) auraient des effets néphroprotecteur et antiprotéinurique chez les patients atteints de maladies rénales chroniques et chez les hypertendus. L'effet anti-protéinurique de la vitamine D résulte de plusieurs mécanismes : une action directe sur les protéines podocytaires (réduction de l'apoptose des podocytes, augmentation de l'expression de la néphrine), une réduction de l'inflammation rénale et une inhibition du SRA. Les études expérimentales sont en faveur d'une inhibition par la vitamine D du SRA et de la voie d'activation du NF-kb (qui participe à la fibrose rénale) (104).

Les études

- Des études sur l'hypovitaminose D ont porté soit sur son implication dans les mécanismes physiopathologiques du diabète (insulinosécrétion, insulino-résistance), soit en tant que facteur prédictif de risque de DT2, soit encore dans son implication directe dans la survenue des complications du diabète (105-106). Elles ont rapporté une association entre déficit en vitamine D et : présence d'un DT2, intolérance au glucose, des formes plus agressives de diabète, une incidence plus marquée du syndrome métabolique.

- Les résultats des études observationnelles semblent montrer une association entre les concentrations en vitamine D et la survenue ou le développement de DT2 par la mesure des marqueurs biologiques de l'intolérance au glucose (glycémie à jeun, test de tolérance au glucose et hémoglobine glyquée) : le risque de diabète est significativement plus important pour les populations dont les concentrations en 25(OH)D sont < 35 nmol/l (versus $> 62,5$ nmol/l) et pour des apports estimés en vitamine D < 200 UI/j (versus > 500 UI/j). Ces résultats n'ont pas été retrouvés dans d'autres études observationnelles ni dans les études d'intervention.

- L'augmentation de la sensibilité à l'insuline, la diminution de l'insulino-résistance, la diminution de l'insulinémie à jeun sont maximales lorsque le taux en 25(OH)D est ≥ 80 nmol/l.

- L'administration quotidienne de 800 UI de vitamine D et de 1 200 mg de calcium diminuerait le risque d'apparition du diabète de type 2 de 33%, comparé à la demi-dose.

- Certains variants génétiques du VDR ou de la DPB prédisposent au développement d'un diabète de type 2.

- Le lien entre le déficit en vitamine D et l'incidence de la protéinurie n'a été prouvé que chez les sujets diabétiques (104).

De façon générale, les études sont plutôt en faveur d'un effet bénéfique de la vitamine D sur le risque de diabète (pathogénie et prévention), le développement du syndrome métabolique, la diminution de la pression artérielle chez les diabétiques de type 2 et les complications cardiovasculaires du diabète. Mais les mécanismes exacts de ces associations restent encore à élucider et le lien de cause à effet à démontrer.

b) Vitamine D et métabolisme lipidique, obésité

Le calcitriol joue un rôle important dans la modulation de la fonction adipocytaire. Il régule le métabolisme des acides gras et l'homéostasie énergétique dans les muscles squelettiques et le tissu adipeux via des actions génomiques et non génomiques (107).

Plusieurs mécanismes peuvent être mis en jeu :

- via son récepteur membranaire, le 1,25D3-MARRS et l'apport calcique : le calcitriol régule indirectement le métabolisme lipidique des adipocytes par la modulation du calcium intracellulaire. Ceci reflète le lien entre le calcium alimentaire et l'obésité. En réponse à un régime alimentaire pauvre en calcium, l'augmentation du calcitriol stimule l'afflux de Ca^{2+} dans les adipocytes ce qui favorise l'obésité par l'inhibition de la lipolyse et par la stimulation de la lipogénèse. Un apport alimentaire riche en calcium peut constituer une cible lors des interventions contre l'obésité.

- Le calcitriol exerce également une action via le VDR en inhibant l'expression de la protéine découplante 2 (UCP2 pour uncoupling protein 2). Celle-ci est en forte concentration dans le tissu adipeux. L'UCP2 joue un rôle de découplant du métabolisme de la production d'ATP, de sorte qu'il y a d'avantage de chaleur produite. Elle est également impliquée dans le transport des acides gras à travers la membrane mitochondriale interne lors de la β -oxydation. Figure 15

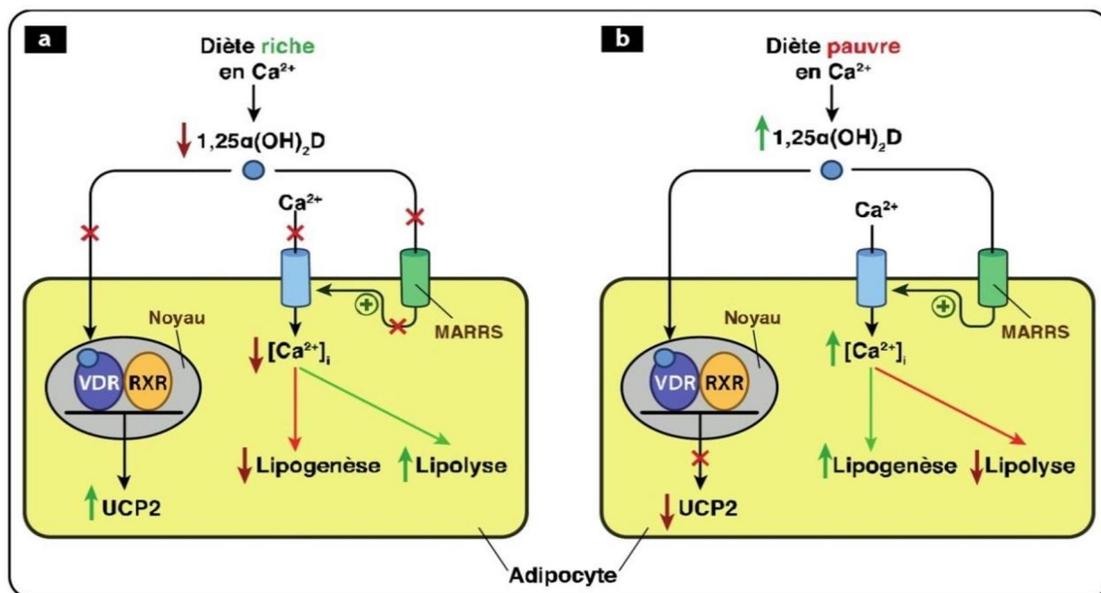


Figure 15. Actions de la vitamine D sur le métabolisme de l'adipocyte.

(a) La suppression des effets du calcitriol par un apport alimentaire riche en calcium.

(b) Lors d'un apport alimentaire pauvre en calcium, le taux du calcitriol augmente, le résultat est une inhibition de l'expression de la protéine découplante UCP2, en plus d'une inhibition de la lipolyse et stimulation de la lipogénèse, d'où un risque d'obésité (107).

- Le calcitriol module l'expression et la production d'adipokines et serait impliqué dans d'autres mécanismes cellulaires complexes au sein de l'adipocyte : régulation du stress oxydatif, régulation des cytokines de l'inflammation ($\text{TNF}\alpha$, IL-6, IL-8) et des concentrations d'adiponectine (adipokine qui améliore l'insulino-sensibilité et diminue la production de $\text{TNF}\alpha$), toutes impliquées dans la physiopathologie de l'obésité.

- La vitamine D ou ses analogues inhibe l'activité de la cyclo-oxygénase 2, module la libération de l'acide arachidonique, diminue le taux de la prostaglandine E1 et E2, et induit l'expression de la 15-prostaglandine déshydrogénase.

▫ Le calcitriol, à faible dose, exerce un effet anti-apoptotique sur les adipocytes : il inhibe l'expression des gènes des caspases 1 et 3 (enzymes de l'apoptose), et stimule celle de gènes de facteurs anti-apoptotiques tels que le Bcl-2.

Études

- Expérimentalement, la supplémentation en vitamine D chez l'animal limite la prise de poids due à un régime riche en graisse.
- En dehors des facteurs environnementaux responsables de l'obésité, des études ont montré que le déficit en vitamine D était associé à l'obésité ou à la survenue d'un syndrome métabolique.
- La réponse à la substitution vitaminique D est également diminuée chez les sujets obèses et déficitaires en vitamine D. En général une majoration de la posologie ou de la durée du traitement par vitamine D est nécessaire.
- Le cas particulier des statines prescrites dans le cadre du syndrome métabolique engendrent des myalgies qui régressent avec une supplémentation en vitamine D chez les sujets carencés.
- La vitamine D, liposoluble, pourrait être "séquestrée" par le tissu adipeux (composante importante du syndrome métabolique) induisant ainsi un taux faible de vitamine D sérique circulant.

3.2.6 Vitamine D et neurologie

D'une façon similaire à d'autres neurostéroïdes, les métabolites de la vitamine D sont capables de traverser la barrière hémato-encéphalique. De plus VDR, CYP27B1 et CYP24A1 sont présents au niveau du cerveau (neurones, cellules gliales ...), expliquant l'action endocrine et autocrine de la vitamine D sur le système nerveux central (108)

- La vitamine D possède des propriétés neurotrophiques et participe à :
 - la régulation du métabolisme des neurotransmetteurs (dopamine, acétylcholine, sérotonine)
 - la régulation de la synthèse de facteurs comme le NGF (Nerve Growth Factor) ou encore le GDNF (Glial Cell line-derived Neurotrophic Factor).
- La vitamine D posséderait ainsi des propriétés neuroprotectrices, via différents mécanismes de neuro-immunomodulation, de pouvoirs anti-oxydant, anti-dégénératif et vasculoprotecteur.
- La vitamine D agit également sur le système nerveux périphérique où elle influence les vitesses de conduction nerveuse.

On peut donc supposer que le déficit en vitamine D joue un rôle dans la genèse de certaines pathologies neurologiques ou psychiatriques. L'hypovitaminose D a été associée à la survenue plus fréquente de troubles neurologiques (comme la maladie d'Alzheimer, l'atteinte cognitive globale chez la personne âgée, la maladie de Parkinson) et de maladies psychiatriques (dépression, schizophrénie).

a. Troubles cognitifs

▫ Maladie d'Alzheimer

Une étude, dont les résultats ont été publiés en 2012, montre qu'il existe une corrélation entre le déficit en vitamine D et une hypoperfusion de la région du précuneus (région cérébrale précocement atteinte au cours de la maladie d'Alzheimer), ce qui renforce l'hypothèse d'un possible effet neuroprotecteur de la vitamine D. Une autre étude a montré que l'apport alimentaire quotidien de vitamine D est associé à un risque moindre de maladie d'Alzheimer. De même des concentrations plus basses de 25(OH)D sont observées chez

des patients atteints d'Alzheimer. Il a aussi été montré que la surexpression du gène codant pour le VDR ainsi que le traitement par la vitamine D suppriment la transcription de la protéine précurseur amyloïde, protéine clef de la maladie d'Alzheimer. Cependant, même si le déficit en vitamine D est clairement délétère pour le système nerveux, la supplémentation en vitamine D ne permet pas d'améliorer les performances cognitives liées à la maladie d'Alzheimer et ne peut pas influencer sur le processus neurodégénératif.

▫ Performances cognitives et contrôle postural

Il pourrait exister une relation entre les capacités cognitives et le statut vitaminique D. L'étude EPIDOS a permis de prouver que le déficit en vitamine D chez la femme âgée est associé à une atteinte de la mémoire explicite, ou des capacités attentionnelles et exécutives. Les résultats d'un autre travail semblent montrer qu'une insuffisance en vitamine D est associée à des modulations des performances cognitives ainsi qu'à des troubles de l'humeur. La vitamine D semble aussi avoir une action sur le contrôle postural. Ceci est un argument supplémentaire en faveur de la prescription de vitamine D chez les sujets âgés carencés.

b. Maladie de Parkinson

Il a été montré que la vitamine D augmente le taux du facteur neurotrophique GDNF dans la substance noire et le striatum, et protège les neurones dopaminergiques de la mort cellulaire lorsqu'ils sont exposés à des molécules toxiques chez l'animal. Dès 1997, une prévalence élevée de déficit en vitamine D et d'ostéopénie était notée dans la maladie de Parkinson. D'autres travaux ont ensuite montré que le taux bas de vitamine D expose à développer la maladie. Cependant, aucune donnée ne permet aujourd'hui de dire que la vitamine D peut ralentir l'évolution de la maladie.

c. Dépression

On connaît depuis longtemps des formes saisonnières de dépression dans lesquelles la lumière solaire semble intervenir. Plusieurs études relient l'insuffisance en vitamine D au développement de symptômes dépressifs. Des essais contrôlés randomisés sont nécessaires pour déterminer si cette relation est causale.

d. Schizophrénie

Un risque accru de schizophrénie a été associé aux naissances hivernales. Parmi les hypothèses avancées pour expliquer ce phénomène, l'hypovitaminose D pendant la grossesse a été l'une des plus étudiées. Cependant, à ce jour, aucun mécanisme n'a clairement étayé cette hypothèse.

e. autres

▫ les douleurs : on retrouve une corrélation entre hypovitaminose D et céphalées ou douleurs chroniques dans certaines études. Des associations établies entre différentes douleurs et la saison ou la latitude apportent un soutien indirect pour un rôle de la vitamine D.

▫ épilepsie : la vitamine D possède également des propriétés anti-convulsivantes intéressantes dans l'épilepsie. D'un point de vue expérimental, il a été démontré que la vitamine D stimule l'expression de la calcium binding protéin également connue pour exercer un effet antiépileptique.

▫ autisme : un déficit en vitamine D au cours de la grossesse pourrait être impliqué dans le développement de la maladie d'autisme chez les nouveau-nés.

3.2.7 Vitamine D et grossesse

Il existe une synthèse de vitamine D dans les cellules déciduales et placentaires. Le placenta humain exprime tous les composants nécessaires à la signalisation de la vitamine D : VDR, RXR, CYP27B1 et CYP24A1 (109).

Pendant la grossesse, la synthèse du calcitriol augmente et la transcription du gène placentaire CYP24A1 est réprimée. Ce calcitriol va jouer un rôle immunomodulateur autocrine et paracrine durant la gestation. Il affecte les cellules dendritiques déciduales et les macrophages qui, à leur tour, stimulent les cellules T régulatrices. Il inhibe également la libération des cytokines de type Th1 et stimule la libération de celles des Th2, qui deviennent surtout dominantes au moment de l'implantation. Cette modulation du système immunitaire peut empêcher le rejet de l'embryon implanté. Une supplémentation en vitamine D pendant la grossesse est associée à une augmentation significative de l'expression des marqueurs de tolérogénicité sur les cellules du sang de cordon.

Le calcitriol contribue également à la transformation des cellules endométriales en cellules déciduales. Au niveau du syncytiotrophoblaste, le calcitriol régule par voie autocrine l'expression de la gonadotrophine chorionique humaine (hCG), de l'hormone lactogène placentaire (hPL), de l'œstradiol et de la progestérone. Ainsi le calcitriol aiderait à l'implantation et au maintien d'une grossesse normale, favoriserait la croissance fœtale, contrôlerait la sécrétion de plusieurs hormones placentaires, et limiterait la production des cytokines pro-inflammatoires.

L'augmentation des besoins en calcium pour le fœtus, nécessaires à son développement osseux, est réalisée par l'accroissement de l'absorption du calcium par la mère dès le début de la grossesse, conséquence d'une élévation du taux de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ associée à une augmentation de la DBP. Cette augmentation du taux de calcitriol d'origine rénale et placentaire (de 50 % à 150 %) durant la grossesse se fait sans hypercalcémie. La concentration sérique fœtale dépend de la concentration en $25(\text{OH})\text{D}$ maternelle.

Conséquences de la carence en vitamine D chez la femme enceinte et le nouveau-né.

De nombreuses études ont rapporté un lien entre concentration en $25(\text{OH})\text{D}$ pendant la grossesse et risque de complications pour la femme enceinte comme pour le fœtus.

Un déficit en vitamine D chez la femme enceinte exposerait à un risque augmenté de :

- pré-éclampsie (PE) : ceci en relation avec les actions de la vitamine D dans l'implantation, l'angiogenèse, l'inflammation, la régulation de la pression artérielle ou le contrôle de la protéinurie.
- diabète gestationnel (DG)
- césarienne
- vaginose bactérienne
- prématurité, RCIU (retard de croissance intra-utérin) pour le fœtus.

De plus, une carence sévère ($< 25 \text{ nmol/l}$ soit $< 10 \text{ ng/ml}$) pendant la grossesse a des conséquences pour le nouveau-né ou chez l'enfant, comme :

- un faible poids à la naissance ou une croissance post-natale plus faible.
- une hypocalcémie néonatale sévère et durable, avec risques de complications cardiaques quand le taux de $25(\text{OH})\text{D}$ était $< 12,5 \text{ nmol/l}$ (5 ng/ml).
- des troubles osseux avec un rachitisme carenciel néonatal (rare) et des signes d'ostéomalacie comme une PTH élevée et des taux de phosphatases alcalines très élevés.
- un risque plus élevé de développer chez l'enfant un diabète de type 1, un problème de surpoids ou de l'asthme.

- des troubles neurologiques irréversibles ou des troubles autistiques. Une étude a retrouvé une relation inverse entre les taux de 25(OH)D et les taux d'anticorps anti-MAG (Myelin-Associated Glycoprotein), anticorps fortement associés aux troubles autistiques. Mais il n'a pas été prouvé que la correction du déficit dans cette population puisse contribuer à réduire la gravité des symptômes.
- des risques allergiques : la consommation de vitamine D pendant la grossesse est considérée comme susceptible de diminuer les risques atopiques des enfants. Une étude a rapporté une diminution des risques gestationnels quand le taux de 25(OH)D est > 50 nmol/l. Aucun bénéfice n'est rapporté quand on augmente le seuil de 50 à 75 nmol/l. Cette relation n'a pas été retrouvée dans les études interventionnelles mentionnées dans le rapport de la HAS (53)

3.2.8 Vitamine D et risque de mortalité

- Des données d'observation (110) suggèrent que les personnes ayant les taux les moins élevés de vitamine D ont un surcroît de mortalité, toutes causes confondues, de 26 %. Une étude rapporte que des taux de vitamine D inférieurs à 44.2 nmol/l (17.8 ng/ml) sont associés à une augmentation de la mortalité globale dans la population générale. D'autres études observationnelles sur la mortalité en population générale ont montré une courbe en "U" caractéristique avec un minimum de mortalité dans la zone de concentration 70-150 nmol/l. A partir d'un taux de 25(OH)D supérieur à 125 nmol/l (50 ng/ml) on retrouve une augmentation de la mortalité toutes causes confondues.
- Quelques études d'intervention ont montré qu'il existe un lien significatif entre hypovitaminose D et taux de mortalité chez la personne âgée, que ce soit la mortalité hospitalière, la mortalité cardiovasculaire ou encore la mortalité toutes causes confondues. Mais d'autres études avec supplémentation ne retrouvent pas d'association. L'AHRQ 2007 ainsi que la HAS 2013 (50,53) concluaient dans leurs rapports respectifs à l'absence de données probantes montrant un effet significatif de la supplémentation en vitamine D sur la mortalité.

3.2.9 Vitamine D et insuffisance rénale chronique

Dans l'insuffisance rénale chronique, la diminution du calcitriol entraîne une hyperparathyroïdie secondaire responsable de la maladie osseuse rénale et des effets extra-osseux (notamment sur l'endothélium vasculaire) avec pour conséquence un excès de mortalité chez les insuffisants rénaux. Ceux-ci présentent une mortalité qui dépasse largement le taux prédit par les facteurs de risque cardiovasculaire "classiques". Cette carence joue également un rôle important dans la faiblesse musculaire quasi permanente chez le sujet dialysé, l'immunodépression très fréquente chez l'insuffisant rénal qui présente ainsi un risque accru d'infections et de cancers (111).

Des études observationnelles montrent que chez l'insuffisant rénal non dialysé, le déficit en vitamine D est associé à une progression plus rapide de la maladie rénale. Certaines études ont montré une association entre déficit en vitamine D et artériosclérose ainsi qu'un lien entre hypovitaminose D et mortalité chez des patients en insuffisance rénale terminale.

- Les études interventionnelles donnent des résultats en faveur d'un impact positif de la supplémentation en vitamine D sur les concentrations de PTH et de 25(OH)D chez l'insuffisant rénal chronique. Mais elles ne permettent pas de conclure en terme de réduction du risque de la maladie osseuse et de fracture chez ces patients.

- D'autres études ont montré une amélioration de la survie chez des patients dialysés ou en IRC recevant un traitement de vitamine D active et cet effet ne relevait pas uniquement de l'effet suppressif sur la sécrétion de PTH. Une étude avec du paricalcitol (analogue de synthèse de la vitamine D considéré comme moins hypercalcémiant et hyperphosphatémiant) aurait donné de meilleurs résultats concernant la mortalité par maladies cardiovasculaires.

En conclusion

L'interprétation et la comparaison des résultats tirés des différentes études restent difficile pour plusieurs raisons : populations incluses hétérogènes, protocoles de supplémentation variés (posologie, type de molécule prescrite, avec ou sans calcium), taux initial de 25(OH)D inconnu ou différant d'une étude à l'autre, effet recherché de la vitamine D traité comme un objectif secondaire.

D'autre part, les études observationnelles ne permettent pas d'établir un lien de causalité entre le déficit en vitamine D et l'incidence ou sévérité des pathologies évoquées : il existe de nombreux paramètres biologiques ou environnementaux qui interfèrent dans les effets observés (PTH, calcium, âge, ensoleillement...). Elles ont moins d'impact pour le clinicien qui attend des informations sur la balance bénéfices-risques d'une supplémentation relevant d'études interventionnelles. Or celles-ci sont moins nombreuses, ne confirment pas toujours l'effet observé dans les études épidémiologiques et surtout ne définissent pas un seuil de 25(OH)D à atteindre pour bénéficier de ces effets, tout au moins en ce qui concerne les bénéfices extra-osseux (78).

En règle générale, il semble que l'obtention des effets extra-osseux de la vitamine D nécessitent des taux sériques de 25(OH)D plus élevés que les niveaux requis pour maintenir une santé osseuse optimale. La production paracrine et autocrine de calcitriol joue un rôle important et fondamental mais difficilement quantifiable.

Des investigations complémentaires par des essais randomisés sont donc nécessaires pour confirmer les effets bénéfiques extra-osseux, l'efficacité d'un traitement, et établir des recommandations quant aux besoins en vitamine D et aux seuils de concentration en 25(OH)D à atteindre pour chaque pathologie étudiée (2,48).

La synthèse d'analogues ayant les mêmes activités immunomodulatrices que la 1,25-(OH)₂D, tout en étant moins hypercalcémiants, ouvre des perspectives intéressantes pour cette prévention en clinique humaine.

4. Evaluation du statut vitaminique D : dosages, valeurs seuils; "Normes"

Pour évaluer un paramètre biologique, un dosage est pratiqué et selon la valeur obtenue, basse, normale ou élevée par rapport aux normes établies, une thérapeutique adéquate est mise en route. Ce schéma s'applique aussi à la vitamine D avec quelques nuances. Comment évaluer les réserves de l'organisme en vitamine D ? Quels dosages pratiquer ? A quels seuils se reporter ?

4.1 Méthodes d'évaluation : dosage de la vitamine D

Autrefois, les carences en vitamine D étaient suspectées par la présence des signes cliniques accompagnant le rachitisme ou l'ostéomalacie carencielle. Mais ces signes cliniques étant peu spécifiques, surtout chez l'adulte (manifestations douloureuses, fatigabilité musculaire, impotence), le diagnostic de polyarthrose, voire de "sénescence" était souvent posé ou même parfois ignoré.

Depuis, les méthodes de dosage de la vitamine D plasmatique sont apparues. On peut ainsi savoir si un patient est carencé ou non et mettre en place des mesures préventives ou thérapeutiques. Ce dosage est devenu essentiel à la détermination du statut vitaminique D et a pris un essor considérable. Cependant il reste difficile à mettre au point (112).

4.1.1. Que mesure-t-on lors du dosage ?

Les réserves en vitamine D sont peu accessibles car elles sont localisées principalement dans le tissu adipeux, le foie et le muscle. Ce sont les taux de 25(OH)D qui seront dosés pour permettre d'évaluer avec précision le statut vitaminique de l'individu. Pourquoi dose-t-on la 25(OH)D et non un autre métabolite comme par exemple la forme biologiquement active, la 1,25(OH)₂D ?

- cholecalciférol et ergocalciférol : leur dosage a un intérêt limité, leur hydroxylation étant très rapide.

- 1,25(OH)₂D : son taux est soumis à une régulation complexe (valeur de la PTH, du FGF23...). Ainsi, les concentrations de 1,25(OH)₂D sont relativement stables, grâce à l'hyperparathyroïdie secondaire induite lorsque la 25(OH)D est trop basse (65) (cf chap 3.1.1). Aussi, lors d'un déficit en vitamine D (réserves faibles), la concentration sérique de 1,25(OH)₂D peut être normale, augmentée ou diminuée (3,61,113) On peut donc aboutir à la situation paradoxale d'un sujet ayant un taux élevé de forme active et un taux bas de 25(OH)D. La mesure de la 1,25(OH)₂D n'est donc pas appropriée pour évaluer le statut vitaminique D. Son dosage est réservé à des cas particuliers.

- Seul le dosage de la 25(OH)D circulante permet d'apprécier indirectement les réserves de l'organisme (3,11,15,48, 49,61,114-115). Elle est la forme principale de stockage de la vitamine D, la principale forme circulante et le substrat de la forme active. Des études animales suggèrent que l'activité de la 1,25(OH)₂D n'est possible que si les taux de 25(OH)D sont suffisants. La 25(OH)D n'est pas régulée activement et sa production dépend des apports alimentaires ou cutanés. Par contre, les concentrations de 25(OH)D sériques varient significativement avec la latitude, la saison... Mais elle est présente dans le sang à des concentrations 500 à 1000 fois supérieures à celles de la 1,25(OH)₂D et sa demi-vie est de 3 à 4 semaines contre 4 heures pour la 1,25OH₂D. La 25(OH)D est donc l'analyte de choix

pour donner un reflet fidèle de l'imprégnation vitaminique D et elle constitue, de façon consensuelle, le marqueur biologique sur lequel se fonde le raisonnement médical, la décision de mise en place d'un traitement et la détermination de la dose optimale.

Unités utilisées : La concentration sérique de vitamine D peut être exprimée soit en ng/ml soit en nmol/l. Nous parlerons ici en nmol/l avec en parenthèses la valeur en ng/ml selon la conversion : $1 \text{ nmol/l} = 2,496 \times \text{ng/ml}$ (arrondi à 2,5).

4.1.2 Les différentes techniques de dosages de la 25(OH)D

Les différentes techniques sont réparties en 2 groupes : les méthodes d'immuno-analyse, les plus pratiquées, et les méthodes séparatives, non immunologiques, à détection directe (52).

◆ Les techniques immunologiques.

Ce sont des méthodes compétitives. Le principe de ces méthodes de dosage est que la 25(OH)D du patient et de la 25(OH)D marquée (le traceur) entrent l'une et l'autre en compétition pour la reconnaissance soit d'un anticorps anti-25(OH)D, soit d'une protéine porteuse CPBA (competitive protein-binding assays).

Selon la nature du marqueur, isotope radioactif, enzyme ou molécule phosphorescente ou luminescente, on distingue des méthodes :

- radio-immunologiques (RIA = Radio Immuno Assays),
- enzymo-immunologiques (ELISA = Enzyme Linked Immuno Sorbent Assays)
- lumino-immunologiques (chemoluminescence ou chimiluminescence) : lesquelles prendrons, selon le système de révélation, la dénomination de : CLIA (ChemiLuminescence), CMIA (Chemiluminescent Microparticle), ECLIA (Electro-Chemiluminescence).

Ces tests immunologiques sont adaptés à des activités importantes, utilisés de façon routinière dans les plates-formes techniques. Ces méthodes sont plus simples, plus rapides et plus accessibles que les méthodes séparatives. Aussi plus de 85 % des laboratoires les utilisent.

◆ Les techniques séparatives, non immunologiques, à détection directe,

Elles reposent sur un processus de séparation physico-chimique (extraction et purification) des molécules à analyser : la chromatographie en phase liquide haute performance (CLHP ou HPCL : High Performance Liquid Chromatography) ou la spectrométrie de masse (MS). Ces 2 méthodes peuvent être couplées (LC-MS). Elles sont plutôt réservées à la recherche car ont des performances analytiques supérieures mais nécessitent un équipement coûteux et une expertise élevée. Elles permettent de rendre le résultat global (D2+D3) ou les métabolites séparément.

4.1.2.1 Un peu d'histoire :

▫ En 1971, Belsey, puis Haddad et al. (116) développèrent la première méthode immunologique manuelle de dosage de la 25(OH)D sérique par **CPBA** où la VDBP sert d'agent de capture. Cette méthode avait l'avantage de reconnaître de façon équimolaire la 25(OH)D3 et la 25(OH)D2. Mais elle mesurait aussi les autres métabolites.

▫ En 1985, DiaSorin® lance la première trousse de dosage radio-immunologique pour la 25(OH)D : compétition dans laquelle un anticorps spécifique anti-25(OH)D sert d'agent de capture (**RIA**, puis EIA et CLIA). Toutefois, elle présentait les mêmes inconvénients.

▫ En 1976, la **CLHP** couplée à la spectrophotométrie UV, développée initialement par Eisman et al. a été la première méthode de dosage physicochimique des métabolites de la

vitamine D à être introduite dans les laboratoires cliniques, suivie par celle de Jones. Cette méthode bien que considérée comme référence à l'époque, ne s'est pas répandue à cause de sa lourdeur technique.

- Watson et al. furent les premiers à décrire une méthode de dosage de la 25(OH)D sérique par CLHP couplée à la spectrométrie de masse (**LC/MS**).

- Ce n'est qu'en 2004, que Vogeser et al. proposèrent une méthode basée sur la CLHP couplée à la spectrométrie de masse en tandem (**LC-MS/MS**) qui s'imposera de plus en plus comme technique de référence dans les laboratoires. Deux procédures de mesure en ID-LC-MS/MS (spectroscopie de masse avec dilution isotopique) ont été reconnues récemment comme technique de référence par le Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine (**JCTLM**) et toutes deux candidates à la **RMP** (Reference Measurement Procedures).

- Le **DEQAS** (Vitamin D External Quality Assessment Scheme) est un programme de contrôle de qualité externe, constitué en 1989, répertoriant des centaines de laboratoires et une dizaine de méthodes de dosages permettant de rendre compte de la diversité des résultats. Son objectif est d'assurer la fiabilité de l'analyse pour la 25(OH)D et la 1,25(OH)₂D.

- le **SRM 972** : en 2009, le National Institutes of Health Office of Dietary Supplements (**ODS**) et le Department of Commerce National Institute of Standards and Technology (**NIST**) annonce la disponibilité d'un standard de référence pour le dosage de la vitamine D, le SRM 972 (étalon) et le SRM 2972 (calibrant). Le standard SRM 972 a été produit à partir de la technique de référence LC/MS/MS et présente des valeurs certifiées de 25(OH)D₂, 25(OH)D₃ et 3-épi-25(OH)D. Mais 3 niveaux sur 4 du SRM 972 sont non utilisables comme standards de référence par la plupart des techniques immunologiques automatisées (effet matrice, pas de dosage du 3-épi-25(OH)D₃ pour la plupart). Donc, ce n'est pas un vrai étalon au regard des critères de l'OMS.

- le **VDSP** (Vitamin D Standardization Program) est lancé en novembre 2010 pour répondre au besoin de standardisation du dosage au niveau international. Ce programme s'est développé sous l'égide de l'ODS, du National Institutes of Health (NIH) et en collaboration avec les Centers for Disease Control and Prevention (**CDC**), le National Center for Environmental Health (**NCEH**), le NIST et le laboratoire de référence pour la vitamine D de l'Université de Gand (Belgique). Bien que le VDSP s'attache principalement aux enquêtes sanitaires nationales, il invite également les laboratoires cliniques publics ou privés ou de recherche ainsi que les sociétés commerciales à participer à l'effort de standardisation. Cette enquête inclut différents pays, des sociétés (DiaSorin, IDS), des LC-MS/MS, la RMP. Son but est de standardiser le dosage de la 25(OH)D et d'évaluer les différences obtenues, ceci en rapport avec les procédures décrites dans le **CLSI EP9-A2** (Clinical and Laboratory Standards Institute) "Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples" (**114**). Le laboratoire est certifié si le biais observé est de $\pm 5\%$ et l'imprécision $\leq 10\%$ (coefficient de variation : CV). Actuellement seulement 5 laboratoires sont traçables au VDSP.

- le **NIST RMP** est la première méthode de référence pour la mesure de la 25(OH)D : elle sépare le 3-épi-25(OH)D₃ de la 25(OH)D₃, certifiant la non surélévation de la 25(OH)D₃, mais ce n'est pas un "standard" et les utilisateurs de LC-MS/MS peuvent s'y être standardisés de manière différente.

- le **DEQAS** en 2013 a lancé une vaste étude avec 1 200 participants dans 52 pays : mesure des échantillons par la NIST RPM, les participants reçoivent les valeurs du NIST pour le dosage "25(OH)D Total" et pour chaque métabolite séparément 25(OH)D₃, 25(OH)D₂ et 3-épi-25(OH)D₃ et les échantillons sont des sérums natifs non dénaturés afin de ne pas "léser" les méthodes automatisées.

4.1.2.2 Phases pré-analytique et analytique

a/ phase pré-analytique

- prélèvement : il peut se pratiquer sur sérum ou plasma (cependant quelques interférences ont été signalées avec les tubes secs à gel pour les méthodes HPLC).
- stabilité : la 25(OH)D est très stable dans le sérum et le plasma, environ 24 heures à température ambiante. Elle est peu sensible aux UV en raison de sa forte liaison à la DBP, rendant inutile des préconisations particulières pour la conservation des échantillons si le dosage est effectué le jour même. Si le dosage est différé, il est conseillé de conserver l'échantillon décanté 4 jours à 2 - 8° ou 1 mois à -20 °C.

b/ Phase analytique

Deux points essentiels sur lesquels se jouent toute la problématique du dosage :

- la phase de préparation : quelle que soit la méthode de dosage adoptée, une étape de dissociation complète de la 25(OH)D de ses protéines porteuses est nécessaire. Leurs différentes concentrations peuvent influencer la cinétique de dissociation. De plus le caractère très lipophile de la vitamine D et sa liaison à la DBP rendent l'opération complexe. On estime que plus de 99% de la 25(OH)D circulante serait liée aux protéines plasmatiques dont environ 85% à la DBP, la majorité de la partie restante étant liée à l'albumine.
- la clause réhibitoire : du fait de la supplémentation, soit en vitamine D2, soit en vitamine D3, il est essentiel que les techniques soient capables de doser les deux formes indistinctement sous peine de sous-évaluer les résultats d'un dosage effectué chez une personne supplémentée en l'une ou l'autre forme et d'amener à prendre des décisions cliniques opposées (48,117). Plus de 95 % de la 25(OH)D circulante est sous forme de 25(OH)D3, tandis que la 25(OH)D2 atteint des niveaux mesurables seulement chez les personnes supplémentées en D2.

c/ quelques exemples de techniques immunologiques automatisées

En France, les dispositifs de dosage immunologique de la 25(OH)D sérique sont utilisés par une majorité des laboratoires (118). Ils mesurent les formes monohydroxylées des vitamines D2 et D3 avec une spécificité variable. Ceci est à prendre en compte dans l'interprétation des résultats.

A travers quelques exemples de troussees mises sur le marché, différents protocoles de dosages par compétition utilisés pour la mesure de la 25(OH)D seront décrits .

Les méthodes d'immunodosage présentées ici ont été approuvées par la FDA (US Food and Drug Administration). Une grande majorité de ces méthodes ont en commun l'utilisation de billes magnétiques (méthodes en phase hétérogène) et la détection par chimiluminescence. La qualité de ces méthodes entièrement automatisées varie selon les fabricants. Elles sont faciles d'utilisation, mais nécessitent encore de multiples étapes de séparation et de lavage. La détermination équimolaire de la D2 et D3 n'est pas toujours respectée, ainsi que la corrélation avec la méthode de référence LC-MS/MS et la traçabilité au standard NIST SRM 972.

exemple 1 : le test Elecsys Vitamin D total de Roche Diagnostics (sorti en 2011) : test par électrochimiluminescence (ECLIA). Principe de compétition mettant en jeu la VDBP (CBPA) pour la détection de 25(OH)D2 et 25(OH)D3. Figure 16

Principe du test : compétition entre la 25(OH)D marquée à la biotine et celle présente dans le prélèvement, pour se fixer à une protéine porteuse de la vitamine D (VDBP) recombinante.

- étape 1 : dénaturation de la VDBP (avec un tampon très acide) pour dissocier la 25(OH)D.

- étape 2 : incubation avec une VDBP recombinante marquée au ruthénium afin de former un nouveau complexe 25(OH)D-VDBP ruthénylée.
- étape 3 : ajout de 25(OH)D biotinylée qui va occuper les sites restés libres de la VDBP ruthénylée. La 25(OH)D biotinylée entre en compétition avec la 25(OH)D de l'échantillon. Ajout de microparticules tapissées de streptavidine qui interagit avec la biotine pour laquelle elle a une forte affinité. L'immuno-complexe se lie à la phase solide par l'interaction biotine-streptavidine.
- étape 4 : par aimantation, les microparticules tapissées d'immuno-complexes se déposent à la surface de l'électrode. Les éléments non liés sont évacués par lavage de la cellule de mesure. L'application d'une tension électrique à l'électrode lance la réaction d'électrochimiluminescence.

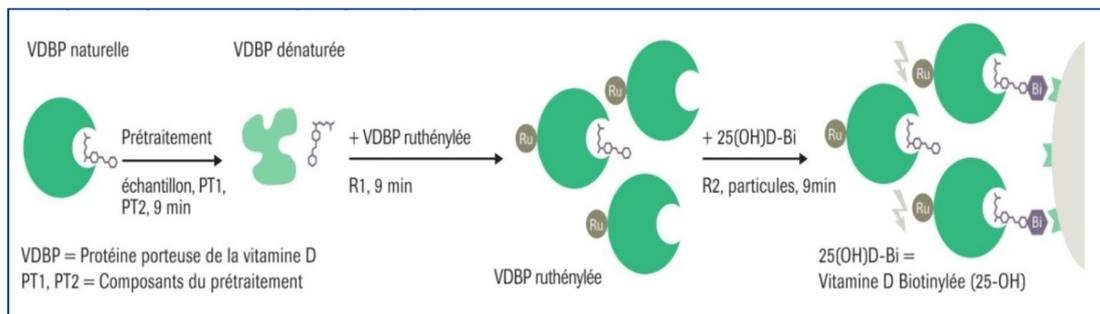


Figure 16 : Principe du dosage de la 25(OH)D par une méthode de compétition CBPA (119)

L'électrochimiluminescence (ECL) est une forme de chimiluminescence qui permet une plus grande amplification du signal. La réaction de chimiluminescence qui entraîne l'émission de lumière est précédée par une réaction électrochimique. Le choix du ruthénium comme marqueur luminescent s'explique car il a un pouvoir de régénération lui permettant de libérer 20 fois plus de photons qu'une réaction de chimiluminescence classique. La tripropylamine (TPA) est une amine qui activée électrochimiquement possède un pouvoir réducteur. Le sel de ruthénium peut donc passer à son état excité grâce à la TPA contenue en excès dans la cellule de mesure. Cette amine est donc l'initiateur et le garant de la nature cyclique de la réaction de double oxydo-réduction générant la lumière. Figure 17

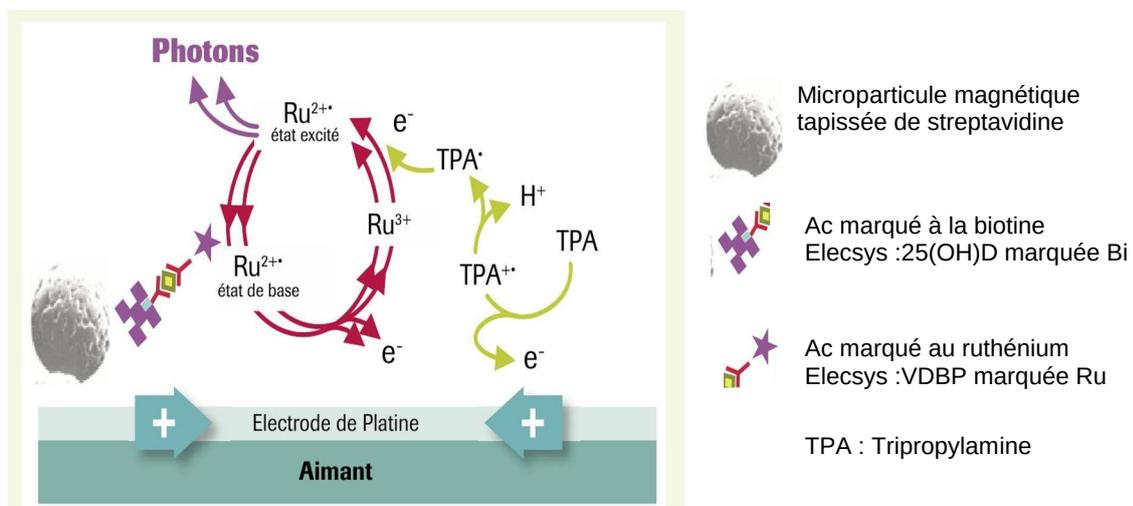


Figure 17 : ECL en phase hétérogène (120)

L'application d'une différence de potentiel, enclenche le cycle réactionnel : oxydation à la surface de l'électrode du sel de ruthénium et de la TPA pour donner les produits d'oxydation Ru^{3+} et le radical cationique TPA^{+} . En libérant un proton, le TPA instable cède son électron (e^-) conférant au Ruthénium son état excité Ru^{2+} . En revenant à son état de base, le ruthénium émet un photon à la longueur d'onde de 620 nm. Il est ainsi disponible pour un nouveau cycle. Cette technique améliore la sensibilité, permet de meilleures linéarités, réduit le temps d'analyse (18 minutes), permet des CV inter-laboratoires < à 5 %.

exemple 2 : ARCHITECT 25 OH vitamine D de chez Abbott

Méthode : Une étape retardée par compétition utilisant la technologie de dosage immunologique microparticulaire par chimiluminescence (CMIA).

Après un pré-traitement du sérum, des microparticules paramagnétiques recouvertes d'anticorps anti-vitamine D (Ac anti-25(OH)D) sont ajoutées. La vitamine D présente dans l'échantillon se lie aux microparticules. Après incubation, le conjugué sous forme d'un complexe [IgG anti-biotine / vitamine D biotinylée marqué à l'acridinium] est ajouté au mélange réactionnel et se lie aux sites de liaison libres sur les microparticules recouvertes d'Ac anti-25(OH)D. Après lavage, les solutions d'activation sont ajoutées. La réaction chimiluminescente qui en résulte est mesurée en unités relatives de lumière (URL). Il existe une relation indirecte entre la quantité de vitamine D présente dans l'échantillon et les URL détectées par le système optique. Durée du test : 36 minutes (121)

exemple 3 – Le test ADVIA Centaur® vitamine D Total de chez Siemens : chimiluminescence quantitative directe.

Principe : immunodosage compétitif en phase hétérogène. L'anticorps de capture monoclonal de souris anti-fluorescéine est lié par covalence à la phase solide représentée par des particules paramagnétiques (PMP). Le réactif est un Ac anti-25(OH)D monoclonal de souris marqué à l'ester d'acridinium, et une vitamine D analogue marqué à la fluorescéine. Une relation inverse existe entre la quantité de la vitamine D présente dans l'échantillon du patient et la quantité d'unités de lumière relative (RLU) détectée par le système.

Méthode : Après relargage de la DBP, on ajoute l'Ac marqué à l'ester d'acridinium. Puis on ajoute les particules PMP recouvertes d'isothiocyanate de fluorescéine (FITC) et de la vitamine D marquée à la fluorescéine. Lavage. L'ester d'acridinium du traceur lié est oxydé en milieu acide et un ajustement du pH permet d'émettre le signal lumineux. Durée du test : 18 minutes.

exemple 4 : le test Access 25OH Vitamin D Total des laboratoires Beckman-Coulter et le test LIAISON® 25 OH Vitamin D TOTAL Assay de chez DiaSorin

Principe du test : test immunoenzymatique de liaison par compétition en deux étapes et révélation par chimiluminescence : CLIA.

Méthode : l'échantillon est incubé avec un agent de libération de la DBP et des particules paramagnétiques recouvertes d'un anticorps anti-25(OH)D. La 25(OH)D libérée de la DBP se lie à l'anti-25(OH)D monoclonal immobilisé sur phase solide. Puis ajout du traceur :

- 25(OH)D conjuguée à de la phosphatase alcaline (PAL) pour le test de Beckman
- 25(OH)D conjuguée à un dérivé de l'isoluminol pour DiaSorin.

Ce dernier entre en concurrence pour la liaison avec l'anti-25(OH)D fixé lors de l'incubation. Après application d'un champ magnétique, une étape de lavage élimine les molécules non liées. Le substrat chimiluminescent (du para-nitrophenyl phosphate pour la PAL et un hydroxyde pour l'isoluminol) et la lumière générée par la réaction est mesurée à l'aide d'un

luminomètre. La production de lumière est inversement proportionnelle à la concentration de 25(OH)D dans l'échantillon.

La quantité d'analyte présente dans l'échantillon est déterminée à l'aide d'une courbe d'étalonnage utilisée pour convertir les mesures en URL.

exemple 5 : Test 25(OH)D des laboratoires Diazyme sur automates Roche.

Principe : Test enzymoimmunologique de type compétitif en phase **homogène** et révélation par colorimétrie. Ce test est basé sur le principe de complémentation de l'activité enzymatique : certaines enzymes peuvent être dissociées en fragments inactifs susceptibles de redevenir pleinement actifs après reconstitution de l'holoenzyme original.

Description du test : méthode basée sur le principe de l' α -complémentation de l'enzyme β -galactosidase et de la compétition entre un fragment d'enzyme donneur (E_D) conjugué à de la 25(OH)D et la 25(OH)D de l'échantillon vis à vis d'un Ac anti-vitamine D. L' E_D peut être combiné à un ligand (25(OH)D) sans affecter l'action de complémentation. Cependant, la liaison de l' E_D -ligand à l'Ac spécifique du ligand va inhiber la complémentation. Figure 18.

- étape 1 : séparation de la VDBP des métabolites de la vitamine D. Ajout des Ac anti-25(OH)D.

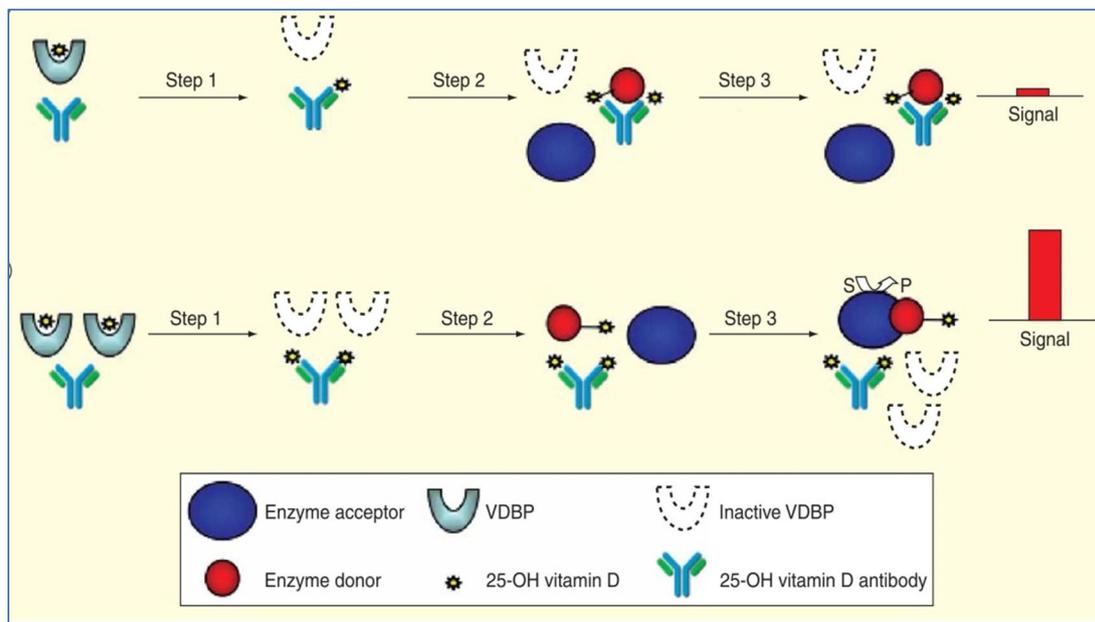


Figure 18 : Dosage en phase homogène et révélation par de la méthode de complémentation de l'enzyme (122)

- étape 2 : ajout du réactif R2 (E_D) qui est de la β -galactosidase conjugué à la 25(OH)D. Incubation de 5 minutes pendant lesquelles se déroule la compétition entre la 25(OH)D à doser et le conjugué E_D -25(OH)D par rapport au nombre limité de sites de liaison sur l'Ac.

- étape 3 : ajout de la β -galactosidase (enzyme accepteur E_A) et du substrat chromogène de l'enzyme (un analogue de l'ortho-nitrophényl β -galactoside : ONPG). Le signal, mesuré par la vitesse d'hydrolyse par l'enzyme du substrat chromogène (absorbance à 415 nm), est proportionnel à la concentration de 25(OH)D dans l'échantillon.

L'avantage de la technique CEDIA (cloned enzyme donor immunoassay) est qu'elle requiert une courbe de calibration linéaire avec une grande précision dans une large plage de mesure. Cette test est rapide (19 minutes) et ne nécessite pas de phase solide ni d'étape de lavages.

Descriptif de validation de ces méthodes fourni par les fabricants :

Toutes ces trousse de dosage doivent mentionner leurs performances et se référer à des organismes de normalisation : la norme européenne NF EN ISO 17511 (AFNOR) ou le CLSI guideline.

- exactitude :

▫ traçabilité :

- standardisation selon une méthode de référence approuvée par le NIST et retenue comme méthode de référence à la RMP 25(OH)D : par LC-MS/MS ou par ID-LC/MS/MS.

- calibrateurs habilités par le JCTLM et tracés selon la RMP.

Cette RMP peut, en outre, être tracée selon la norme NIST SRM 2972 et ce procédé de traçabilité est inclus dans la norme EN ISO 17511.

Cette méthode standardisée est la procédure de référence utilisée par le VDSP.

▫ justesse, fidélité :

- répétabilité intra-dosage et intra-lot, reproductibilité inter-lots, imprécision totale calculée à partir du CLSI EP5-A2 guidelines (CV %, écart type : ET),

- limite du blanc LoB, de détection LoD, de quantification LoQ),

- linéarité, domaine de mesure : étude basée sur la directive EP6-A du CLSI.

- **sensibilité** : évaluée selon les recommandations CLSI EP17-A2.

- **spécificité** : tests de réaction croisée avec : 25(OH)D3, 25(OH)D2, Vitamine D2 (ergocalciférol), Vitamine D3 (cholécalfiérol), 24,25(OH)₂D3, 1,25(OH)₂D2, 1,25(OH)₂D3, 3-épi-25(OH)D3, 1α(OH)D3 (alfacalcidol), Paricalcitol (Zemplar), selon la directive EP7-A2 du CLSI.

- fiabilité, interférences :

- avec d'autres molécules : hémoglobine, bilirubine, phosphatase alcaline, héparine, acide acétylsalicylique, Ibuprofène. Procédure CLSI EP7-A2.

- avec les Ac hétérophiles (facteur rhumatoïde (FR) ou des Ac humains anti-animal (HAMA)

- **tests de comparaison** : sérum/plasma (EP9-A2 du CLSI) ou serum sans gel/ sérum avec gel, pour l'effet matrice.

- **test de comparaison avec d'autres techniques** : détermination du coefficient de corrélation avec d'autres techniques commercialisées (habilitées avec un NIST) (EP10-A2 du CLSI) notamment avec la technique RIA Diasorin et au LIAISON (DiaSorin) et avec la technique CPL-SM/SM ou ID-LC/MS/MS standardisée sur le NIST (SRM 972 et SRM 2972).

- **valeurs de référence ou valeurs attendues ou valeurs recommandées** : sont mentionnées

▫ les valeurs recommandées par le Clinical Guidelines Subcommittee of the Endocrine Society Task Force (2011) ou par le Canadial medical association Osteoporosis (2010, Canada) ou

▫ les valeurs de référence liées à la santé : "une concentration de 75 nmol/l (30 ng/ml) est considérée comme valeur souhaitable pour un état de santé optimal" ou "des concentrations de 25(OH)D inférieures à 50 nmol/l (20 ng/ml) sont considérées comme insuffisantes" ou "un groupe d'experts a récemment recommandé une plage cible d'au moins 75 à 100 nmol/l (30 à 40 ng/ml)" ou

▫ "Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs de référence qui peuvent être spécifiques à la population en question, en raison de facteurs géographiques, saisonniers, alimentaires, environnementaux ou individuels (âge, origine ethnique...)"

d) Autres méthodes et technique de référence LC-MS/MS

▫ Technique radioimmunologiques RIA : techniques dites "chaudes"

Exemple : DiaSorin 25(OH)D ¹²⁵I RIA Kit. Technique par compétition, en deux temps : une phase d'extraction suivie d'une phase de purification en colonne des métabolites de la vitamine D. L'échantillon (éluat de 25(OH)D), l'anticorps anti-25(OH)D et le traceur (25(OH)D marquée à l'iode 125) sont incubés pendant 2 heures. Ajout du complexe précipitant, incubation de 20 minutes, centrifugation de 20 minutes et décantation. Mesure de la radioactivité dans un compteur gamma.

C'est une technique précise qui fut longtemps le test de référence et est toujours utilisée pour la corrélation avec les techniques immunologiques "froides". Les seuils de décision clinique ont été établis sur cette méthode RIA de Diasorin.

L'inconvénient de ces techniques réside dans la lourdeur de la réglementation encadrant les techniques, les locaux et la protection des manipulateurs. Elles ont tendance à disparaître.

Des dosages par RIA directs (avec extraction mais sans purification chromatographique), ont été délaissés au profit des techniques automatisées immunologiques.

▫ Méthodes physiques : dosage par LC-MS/MS : méthode de référence

Ce sont les méthodes de référence, longues, de technicité difficile et guère utilisables en routine. Selon le relevé du Deqas d'octobre 2013, près de 25 % des participants les utilisent. Elles ont l'avantage de pouvoir mesurer précisément les différentes formes de 25(OH)D et potentiellement les autres métabolites de la vitamine D (en particulier la 24,25(OH)2D) (114).

Il existe des variables dans la méthode par LC-SM/SM, comme la technique d'extraction, la méthode d'ionisation, le type de séparation chromatographique (normal ou inverse) et le type de standard interne. Ceci peut avoir un impact sur la fiabilité des résultats et on observe des variations d'un laboratoire à l'autre.

La méthode LC-MS/MS (choisie comme la méthode de référence par le CDC) est la seule méthode capable de mesurer séparément les concentrations de 25(OH)D2 et 25(OH)D3 et leur épimère respectif 3-épi. Bien que supérieures en précision et en spécificité, ces techniques n'ont pas pu suivre la demande croissante de dosage de 25(OH)D. HPLC et LC-MS/MS sont des techniques lourdes, longues (plus de 24h), demandant des techniciens qualifiés et peu adaptées à l'automatisation.

4.1.3 Propriétés des différentes techniques de dosages

Comme vu précédemment, ce dosage peut être pratiqué selon des techniques très variées, chacune ayant ses limites et imprécisions. Mais aucune étude ne permettra d'apprécier les qualités métrologiques des trousse de dosage tant qu'il n'y aura pas de technique et de matériau de référence auxquels se référer (114). Aujourd'hui les recherches s'orientent vers :

► une technique de référence et une standardisation des techniques de dosage

Actuellement, selon le JCTLM, il n'existe pas de méthode de référence pour le dosage de la 25(OH)D, ni de standard international, d'où la difficulté de standardisation des mesures et de comparaison des techniques entre elles. Chaque laboratoire est libre de choisir sa technique de dosage parmi celles disponibles sur le marché et elles ne sont pas totalement harmonisées entre elles. Le coefficient de variation enregistré par le DEQAS 2013 est de 11 à 25 % toutes méthodes confondues (il était de 32 % en 1994). Les résultats sont difficilement interprétables d'une technique à l'autre, d'un laboratoire à l'autre.

Certaines méthodes par LC/MS/MS ont négligé les phases pré-chromatographiques et chromatographiques avec des effets délétères sur la précision, l'exactitude et la sensibilité analytique. Toute technique devra cependant se référer à la LC-MS/MS et au SRM 972 proposé par le NIST et la recherche avance pour une standardisation des dosages (123). Bien que toutes ces méthodes donnent des tests de justesse et de fidélité de haut niveau, leur exactitude ne peut être évaluée en l'absence de méthode ou de matériau de référence.

► **une meilleure spécificité couplée à une meilleure sensibilité**

▫ **problème de spécificité**

L'Afssaps a réalisé un état des lieux de la spécificité des différentes techniques de dosages disponibles sur le marché français en 2009 (118), les méthodes séparatives apparaissant supérieures aux méthodes compétitives à ce niveau. Des réactions croisées existent avec les différents métabolites de la vitamine D qui ont des structures similaires à la 25(OH)D.

- dosage équimolaire des formes D2 et D3 : actuellement, toutes les trousse de dosages mesurent à la fois la 25(OH)D2 et la 25(OH)D3, mais pas toujours de façon équivalente. La 25(OH)D2 est la forme le plus souvent sous-estimée dans les techniques immunologiques automatisées (117). Dans la technique CBPA par exemple, on peut retrouver une sur-estimation de la 25(OH)D3 (de 10,8 %) et une sous-estimation importante de la 25(OH)D2 (de 38,4 %), d'où un problème avec les patients supplémentés en D2.

- interférence des autres métabolites : ceux-ci peuvent représenter jusqu'à 15 % du total d'un dosage. L'épimère C3 de la 25(OH)D et la 24,25(OH)2D peuvent se rencontrer à différentes concentrations dans le sérum des patients et leur dosage peut conduire à une surestimation des résultats. Les techniques par LC/MS/MS ne sont pas dépourvues de ce manque de spécificité : une technique LC/MS/MS a montré un biais positif de 11 % par rapport à la méthode de référence NIST, alors que ce biais n'était que de 3 % toutes méthodes confondues (dû à une surestimation incluant le 3-épi-25(OH)D3).

Le 3-épi-25(OH)D3 représente (116) :

- Jusqu'à 61 % de la vitamine D totale de 100 % des enfants < 1 an (moyenne : 11 - 28 %).
- Jusqu'à 20 % de la vitamine D totale de 100 % des enfants < 18 ans (moyenne = 6,2 %).
- Jusqu'à 17 % de la vitamine D totale de 100 % des adultes (moyenne = 3,5 %).

Il n'y a pas de consensus sur l'activité biologique de cet épimère.

Exemples : - dans le test Advia Centaur "Vitamin D Total re-standardisé" de chez Siemens, le pourcentage de réaction croisée avec le 3-épi-25(OH)D3 est < à 1,1 %, et la mesure équimolaire D2/D3 de 100 %. Ce test est certifié pour les valeurs pédiatriques (116).

- dans le test des laboratoires Diazyme ou le test Access de chez Beckman, le pourcentage de réaction croisée avec le 3-épi est d'environ 60 %. Ils sont donc inutilisables en néonatalogie et pédiatrie, mais validés par la FDA en 2014 et pour le marché CE (122).

▫ **problème de sensibilité**

Certaines techniques froides sous-estimeraient les résultats par manque de sensibilité. Au total, aucun dosage ne semble exempt de problèmes de sensibilité ou de spécificité.

► **une meilleure fiabilité des mesures**

Les performances analytiques des méthodes de dosage publiées par les fabricants reposent donc sur des données obtenues en l'absence de méthode ou de matériau de référence. Donc la fiabilité des mesures, celle fournie par les laboratoires d'analyses mais également celle sur lesquelles s'appuient les études publiées dans la littérature, peut être remise en question. Le problème réside dans la non-corrélation des techniques entre elles (124).

L'Afssaps a réalisé en 2011 un contrôle qualité concernant les dosages de 25(OH)D (sur matrice sérique enrichie) par les deux types de techniques où les immuno-dosages représentaient 98,6 % des données et les techniques séparatives 1,4 % (125). En dehors d'un effet matrice, les résultats montrent que la dispersion inter-laboratoire globale est correcte : CV = 11,25%. On peut conclure que les techniques les plus utilisées par ces laboratoires donnent des résultats relativement homogènes (CV 8 %). Par contre, les résultats sont beaucoup plus dispersés avec les méthodes non automatisées (CV : 25,55%), notamment celles par CLHP et avec des moyennes plus élevées que les autres techniques. Par exemple, la LC/MS/MS pêche en fiabilité dans ses variantes de phases pré-chromatographiques et chromatographiques. Lors du contrôle externe de qualité DEQAS de 2013, le coefficient de variation allait de 9,7 à 13,1 % pour les méthodes par SM (11 à 25 % toutes méthodes confondues).

Le Deqas rend compte de cette fiabilité des mesures par comparaison avec une moyenne tronquée toute technique confondue.

Quelques causes responsables de la variation de la fiabilité :

- problèmes de sensibilité à la matrice : un point sensible de ces techniques réside dans le déplacement de la 25(OH)D de sa protéine porteuse. Ceci a pour effet de rendre ces méthodes sensibles aux variations de matrices (échantillon sérique natif ou échantillon commutable) menant à des résultats divergents (114). Comme la 25(OH)D est une molécule hautement hydrophobe, elle circule liée à la DBP. L'affinité de la 25(OH)D pour la DBP est très forte ($K_a = 5 \cdot 10^8$) et les taux de DBP sont largement en excès par rapport à la 25(OH)D (95 % de la DBP est libre). De plus, les taux de DBP peuvent varier considérablement (de 90 à 1 100 µg/ml dans une population normale). L'abondance des sites non occupés de DBP et l'interaction non spécifique avec d'autres serum-albumines compliquent les techniques de libération de la 25(OH)D. Selon la méthode de dénaturation, selon la quantité de DBP (ethnie, grossesse, pathologie néphrotique ou hépatique, prise d'œstrogènes...) on obtiendra des résultats différents.

Les contrôles de qualité externe auxquels participent les laboratoires ne délivrent pas tous de "vrais échantillons sériques" en raison de la nature hydrophobe de la vitamine D, et de ce fait, ne permettent pas de comparer les techniques entre elles au niveau de l'effet de sensibilité à la matrice. C'est pourquoi par exemple le GRIO recommande le contrôle de qualité Deqas (117).

- problèmes d'interférence : comme pour les autres paramètres dosés par méthodes immunologiques, ces dosages de 25(OH)D sont sujets aux interférences qui amènent de l'inexactitude et peuvent même conduire à un diagnostic erroné :

- anticorps hétérophiles (126) : les IgG humaines anti-animaux, (vaccination ou contact avec des animaux domestiques), le facteur rhumatoïde donnent des faux positifs dans les méthodes sandwich en mode non-compétitif. De même, la biotine en prescription (syndrome de jambe sans repos) ou les Ac anti-ruthénium peuvent donner des résultats sous-évalués.

- autres molécules biologiques : hémoglobine, bilirubine...

- système de prélèvement adopté : tube sec avec ou sans gel.

En résumé : - les techniques automatisées sont largement utilisées, de technicité facile, mais sensibles à l'effet matrice, et posent des problèmes de spécificité (équimolarité, 3-épi-25(OH)D).

- les techniques physiques sont de technicité plus experte, lourdes et longues, mais permettent de séparer les formes D2 et D3, sont plus exactes, mais peuvent manquer de spécificité (réaction croisée avec le 3-épi-25(OH)D3 sauf si étape préalable, mais délai encore plus long).

4.1.4 Dosage de la 1,25 dihydroxyvitamine D

Ce dosage renseigne sur l'adaptation de la synthèse de 1,25(OH)₂D aux besoins de l'organisme en calcium et en phosphates. La valeur trouvée représente l'activité de la 1 α -hydroxylase, c'est-à-dire la fraction normalement hydroxylée dans le rein sous l'influence de la PTH, mais aussi pathologiquement dans d'autres sites d'hydroxylation (granulomes). La production quotidienne chez l'homme de la 1,25(OH)₂D est estimée entre 0,3 et 1 μ g/j.

En dehors de l'insuffisance rénale, le dosage de la 1,25(OH)₂D est réservé à quelques situations particulières comme :

- le diagnostic étiologique d'une hypercalciurie, avec ou sans hypercalcémie, associée à une PTH basse pour éliminer une élévation de la 1,25(OH)₂D due à une granulomatose ou une sarcoïdose.
- le diagnostic différentiel des rachitismes pseudo-carenciels : type I (taux de 1,25(OH)₂D effondré), type II (taux de 1,25(OH)₂D élevé)
- le diabète phosphaté primitif pour savoir si la 1,25(OH)₂D est élevée (réponse physiologique à une hypophosphatémie) ou non (sécrétion de FGF 23).

Particularités techniques du dosage de la 1,25(OH)₂D

Ce dosage reste délicat car il se heurte à trois types de problèmes techniques :

- 1/ La nécessité de séparer la 1,25(OH)₂D des autres métabolites de la vitamine D avant le dosage proprement dit;
- 2/ La concentration sérique de la 1,25(OH)₂D est mille fois inférieure à celle de la 25(OH)D et sa demi-vie d'environ 4 heures. Valeurs normales : 15 à 55 pg/ml;
- 3/ Enfin, sa nature fortement lipophile.

Cette séparation se fait par extraction avec des solvants organiques ou par immuno-extraction. Actuellement, deux techniques radio-immunologiques sont utilisables se distinguant par leurs étapes de séparation. Les méthodes de détection utilisant la spectrométrie de masse après séparation chromatographique représentent l'avenir.

4.1.5 Les règles de lecture des résultats

Le rendu des résultats nécessite la vigilance du biologiste et du médecin quant à l'interprétation des données (52,117) :

- Bien que toutes les techniques actuelles rendent les valeurs de la vitamine D2 et D3, il faut s'assurer du dosage équimolaire des deux formes, surtout si le patient est supplémenté en vitamine D2.
- Pour les laboratoires qui utilisent une technique qui distingue la 25(OH)D2 et la 25(OH)D3 (HPLC ou SM), il est impératif que la somme des deux formes apparaisse comme résultat final sur le compte rendu. A l'inverse se méfier de résultats qui paraissent anormalement bas (par exemple si le dosage ne porte que sur la D3).
- Devant toute valeur aberrante ou ne correspondant pas à la clinique ou à la supplémentation, demander le dosage par une autre technique (piège des Ac hétérophiles).
- S'affranchir des normes publiées par le laboratoire. A ce sujet, Heaney écrivait en 2000 dans un communiqué "Lorsqu'il prescrit et interprète un dosage de vitamine D, le médecin doit, dans virtuellement tous les cas, ignorer les normes publiées par le laboratoire" (127). De plus, ne pas oublier les confusions possibles dues aux unités (nmol/l ou ng/ml), ni la date du prélèvement car les variations saisonnières sont responsables de fluctuations naturelles du taux de 25(OH)D.

Conclusion sur les techniques :

La standardisation des trousse de dosage par rapport à une méthode et un matériau de référence est en cours. Mais pour l'instant, le changement de laboratoire ou de technique entre deux dosages ne permet pas une comparaison fiable des résultats d' un même patient.

Toutefois le VDSP a permis une harmonisation des immunodosages et actuellement, les variations analytiques restent dans des plages raisonnables. D'après la variabilité constatée par le contrôle de qualité DEQAS, un résultat rendu à 30 ng/ml reflète une concentration probablement comprise entre 23 et 40 ng/ml.

Ces résultats de 25(OH)D doivent être utilisés comme un support d'évaluation de la suffisance en vitamine D. Ceci nous amène à aborder la question de la définition des seuils de carence, insuffisance, normalité et toxicité.

4. 2 Valeurs de référence

Dès lors qu'on a obtenu une mesure de la 25(OH)D, il faut pouvoir interpréter cette valeur en se reportant à des normes. Celles-ci doivent pouvoir orienter le praticien sur la conduite à suivre pour mettre en place des mesures préventives, thérapeutiques ou définir les posologies. Comment ont été définis les seuils de normalité, et ceux dits d'insuffisance ou de déficit en vitamine D sérique?

Sur cette question il n'y a pas de véritable consensus, ni sur la base à utiliser pour établir les seuils, ni sur la valeur des seuils, ni sur les termes employés pour qualifier le statut en vitamine D : normal, optimal, suffisant, idéal, souhaitable (128). La définition du seuil en dessous duquel on peut conclure à une insuffisance fait l'objet de débats depuis plusieurs années. Nous allons passer en revue dans un premier temps les différentes bases sur lesquelles fonder les valeurs seuils, puis les différentes propositions de définition de déficit en vitamine D.

4.2.1 Evaluation selon la détermination habituelle des valeurs seuils.

Habituellement, la détermination des valeurs de référence d'une constante biologique est obtenue à partir d'un échantillon d'un grand nombre de sujets considérés comme étant en bonne santé (population dite de référence). L'étendue des valeurs de référence correspond à +/- deux écarts types autour de la moyenne et représente 95 % de la population. Si on applique cette méthode à la vitamine D, la fourchette de normalité s'étend de 25 à 137,5 nmol/L (10 à 55 ng/ml) (61). Deux remarques s'imposent :

- d'une part cette plage est très étendue. Ceci s'explique par les grandes variations à l'échelon individuel de paramètres non modifiables comme la saison, la latitude ou la couleur de la peau (2,3,8). Or selon les populations étudiées, la norme inférieure sera différente : les variations extrêmes se répartissent d'une population noire prélevée en hiver à une latitude supérieure à 40° (10 nmol/L ou 4 ng/ml) à une population caucasienne en zone d'ensoleillement intense (75 nmol/l soit 30 ng/ml). Une étude chez les Massaïs a trouvé une concentration moyenne de 115 nmol/l (46 ng/ml) (129). Donc les valeurs de référence établies dans une population donnée ne peuvent être généralisées. De plus les mesures rapportées résultent de méthodes différentes et en l'absence de standardisation, il peut y avoir des écarts significatifs d'où la difficulté d'établir des seuils.
- d'autre part de nombreuses revues suggèrent que les valeurs normales de 25(OH)D obtenues dans des populations apparemment en bonne santé sont beaucoup trop basses et inadaptées.

Ces valeurs dites "usuelles", biostatistiques, décrivant une population présentent peu d'intérêt pour le clinicien. Celui-ci pour décider d'une intervention diagnostique ou thérapeutique préfère se fonder sur les résultats d'essais thérapeutiques. Ainsi, d'autres approches ont été proposées, biochimiques, biologiques ou cliniques, comme définir un seuil à partir duquel apparaissent des événements délétères pour la santé (80,83,130). Mais ici encore, avec la multiplicité des troubles engendrés par l'hypovitaminose D (effets osseux et extra-osseux), le choix reste vaste et complexe. Les "valeurs recommandées" ou "valeurs souhaitables" vont se substituer aux "valeurs normales".

4.2.2 Détermination des valeurs de référence selon d'autres critères.

Les valeurs seuils ont été redéfinies en tenant compte de la variation de paramètres liés à l'action de la vitamine D comme l'absorption intestinale du calcium, l'augmentation de la PTH ou la variation de la DMO ou liés à l'apparition des effets délétères sur la santé osseuse comme l'apparition de rachitisme, d'ostéomalacie ou le risque de fracture (2,3,77).

4.2.2.1 Détermination des seuils sur la base de marqueurs biologiques :

a/ Relation entre les concentrations sériques de 25(OH)D et de PTH.

L'hyperparathyroïdie secondaire est considérée comme un témoin classique du manque de vitamine D. On peut définir l'insuffisance en vitamine D par le seuil au-dessous duquel peut apparaître une hyperparathyroïdie secondaire dans une population en bonne santé. Il existe une relation inverse entre les concentrations sériques de PTH et les concentrations sériques de vitamine D jusqu'à une concentration de 75 nmol/l (30 ng/ml) de 25(OH)D. Au-dessus de ce seuil, la PTH évolue en plateau. Ce point d'inflexion dépend toutefois de plusieurs paramètres : de la méthode statistique utilisée, de la population testée, de la saison puisque les taux de PTH sont inversement corrélés aux variations saisonnières de 25(OH)D, et surtout de la calcémie ionisée et donc de la consommation quotidienne de calcium (131). Plus celle-ci est basse, plus le seuil vitaminique est élevé. De faibles apports calciques augmentent le taux de PTH et de 1,25(OH)₂D, d'où une diminution de la demi-vie de la 25(OH)D et une accentuation du déficit. Inversement des apports élevés entraîne une épargne de 25(OH)D. Schématiquement avec des apports calciques de 700 à 1000 mg/j, le point d'inflexion varie entre 75 à 80 nmol/l (30-32 ng/ml) et pour des apports calciques de 1 200 à 1 500 mg/j, il se situe vers 50 nmol/l (20 ng/ml). Ce point peut ainsi varier de 40 à 120 nmol/l (16 à 48 ng/ml).

La valeur seuil de 75 nmol/l (30 ng/ml) comme "limite inférieure de la normalité" a donc été proposée et établie en se basant sur l'apparition de l'augmentation de la PTH en réponse à l'insuffisance, pour des apports calciques de 800 mg/j (77). Figure 19 (a)

L'IOM a cependant montré une corrélation entre 25(OH)D et PTH sous forme de régression linéaire mais sans seuil de 25(OH)D induisant un plateau de PTH.

b/ Relation entre les concentrations de 25(OH)D et les capacités d'absorption intestinale du calcium.

L'un des principaux effets nocifs de la carence en vitamine D est une diminution de l'absorption intestinale du calcium. Mais cette absorption n'est pas facile à mesurer (utilisation d'isotopes du calcium). Il a été néanmoins observé que l'efficacité de l'absorption fractionnelle intestinale de calcium augmente lorsque les concentrations sériques en 25(OH)D sont situées entre 30 et 80 nmol/l (12 et 32 ng/ml) puis n'est plus modifiée (plateau atteint) au-delà de 80 nmol/l (32 ng/ml) où l'absorption est maximale (65 %) pour une même quantité de calcium ingérée (133). Ce nouveau "seuil bas" est proche de celui obtenu par la mesure de la production de PTH. Figure 19 (b).

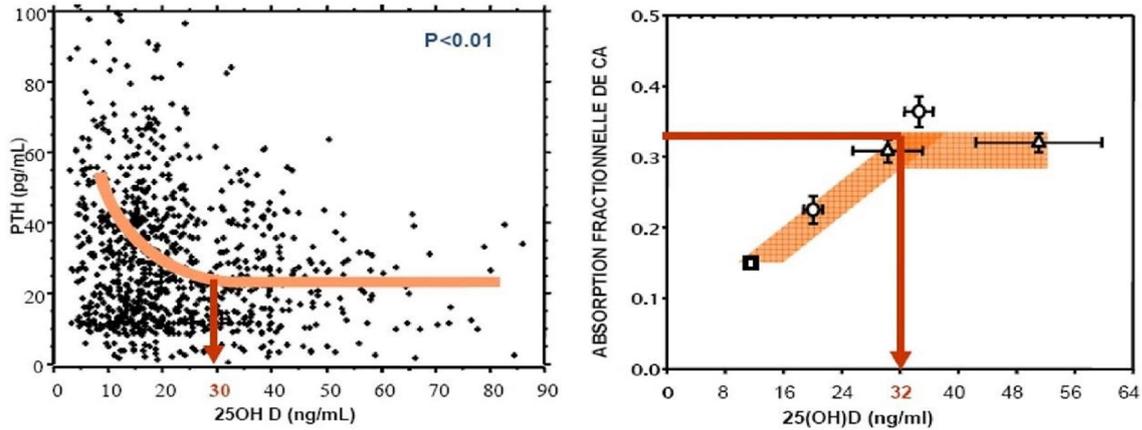


Figure 19 (132).

- a) Hyperparathyroïdie secondaire en fonction de la concentration en 25(OH)D
 b) Absorption fractionnelle de calcium en fonction du taux de 25(OH)D (133).

Néanmoins, pour certains, la répercussion sur l'absorption du calcium n'existe que dans les cas de carence très sévère, quand il n'y a plus assez de substrat 25(OH)D pour obtenir des taux suffisants de 1,25(OH)₂D, malgré la réaction parathyroïdienne secondaire (134). Pourtant, chez la femme ménopausée, l'absorption intestinale du calcium passe de 45 à 65 % lorsque les taux de 25(OH)D sont optimisés à 75 nmol/l (30 ng/ml).

c/ Relation entre les concentrations sériques de 25(OH)D et la densité minérale osseuse.

On peut également s'appuyer sur les marqueurs biologiques du remodelage osseux. Les études d'observation ont montré une relation entre les taux de vitamine D et la DMO. Cette relation est significative pour une concentration de vitamine D comprise entre 22,5 et 94 nmol/l (9 et 37,6 ng/ml), avant ou après 50 ans (70). Cela détermine un seuil au-delà duquel la concentration en 25(OH)D serait optimale, entre 90 et 100 nmol/l (36 à 40 ng/ml)(73,77). Pour certains auteurs, la DMO pourrait même constituer un meilleur marqueur que la PTH pour déterminer la valeur optimale de 25(OH)D.

4.2.2.2 Détermination des seuils sur la base de critères cliniques

On peut étudier la relation entre les concentrations sériques de 25(OH)D et la fréquence de certaines maladies ou des effets positifs attendus en terme de diminution des risques.

a) Par le biais des études épidémiologiques, on peut retrouver le seuil pour lequel apparaissent des conséquences cliniques osseuses ou extra-osseuses. Tableau VII.

- au niveau osseux, la situation de déficit en vitamine D entraîne des effets néfastes. On peut s'intéresser au seuil requis pour que n'apparaissent pas d'effets osseux. Ainsi, il est reconnu depuis longtemps que des concentrations très basses de 25(OH)D, inférieures à 12,5 ou à 25 nmol/l (5 ou 10 ng/ml) sont associées au rachitisme et à l'ostéomalacie. On peut dire également qu'il n'y a ni rachitisme, ni ostéomalacie pour des concentrations sériques supérieures à 25 nmol/l (10 ng/ml), ni hyperparathyroïdie secondaire impliquant un remodelage osseux, ni diminution de la DMO au-dessus de 50 nmol/l (20 ng/ml) (77). Une concentration inférieure à 50 nmol/l est un facteur de risque d'ostéoporose, de faiblesse musculaire, et de chute chez les personnes âgées (51).

- Concentration de 25(OH)D au-dessus de laquelle le risque de pathologies extra-osseuses est minimal. De nombreuses études observationnelles ont pu montrer une association entre la concentration basse de 25(OH)D et la fréquence de certaines maladies (diabète, tuberculose, polyarthrite rhumatoïde, cancers, sclérose en plaques, événements cardiovasculaires, etc...). Mais les valeurs seuils ne sont pas clairement établies. Généralement, les sujets dans le quantile supérieur de 25(OH)D, correspondant à une concentration de 25(OH)D supérieures à 75 nmol/l (30 ng/ml), ont un risque relatif moins important que ceux dans le quantile inférieur (77).

b) Les études d'intervention ont une importance majeure pour définir les taux de 25(OH)D à partir desquels on observe des effets bénéfiques sur la santé en terme de diminution de risques de certains événements ou maladies. On retrouve ainsi comme seuil :

- 75 à 100 nmol/l (30 à 40 ng/ml) pour la diminution du risque de fracture (71,72,130).
- 61 à 90 nmol/l (24,4 à 36 ng/ml) pour la diminution du risque de chutes chez le sujet âgé (83).
- 96 nmol/l (38,4 ng/ml) pour la diminution du risque de cancers colorectaux et mammaires (100).

Méthode de calcul	Valeur (étendue)	
	nmol/L	ng/ml
Moyenne +/- 2 écarts-type	(25 – 137,5)	(10 – 55)
Hyperparathyroïdie secondaire	(75 – 80)	(30 – 32)
Absorption intestinale de calcium	80	32
Rachitisme / Ostéomalacie	(12 – 25)	(5 – 10)
Densité minérale osseuse	(90 – 100)	(36 – 40)
Risque de fractures	(75 – 100)	(30 – 40)
Risque de chutes	(61 – 90)	(24,4 – 36)
Risque de cancers	96	38,4

Tableau VII. Détermination des valeurs de référence en fonction de la méthode utilisée (135).

4.2.3. Les valeurs de référence : synthèse des propositions d'experts

Malgré les controverses tout le monde s'accorde à dire que la norme doit être "fondée sur la santé" et non pas sur des statistiques de population générale. Ainsi, historiquement, le statut normal de vitamine D a été défini par l'évitement des effets délétères osseux et il existe actuellement un consensus international pour utiliser ce type de seuil dans le cas de la 25(OH)D (117).

Un autre problème vient du vocabulaire et la définition des termes caractérisant les différents statuts vitaminiques n'est pas consensuelle : on retrouvera ainsi les termes de "carence", "déficit", "insuffisance" (qui peuvent eux-mêmes être majorés de : léger, modéré, sévère) ou "suffisance" "taux optimal à atteindre", "valeurs souhaitables", "valeurs recommandées" ou "toxicité", "possible intoxication". Un déficit sévère est-il une carence ?, un déficit modéré une insuffisance ?.... Le nombre de paliers dans l'hypovitaminose D peut lui aussi être variable.

Les sociétés savantes ont émis chacune leurs valeurs de référence sur la base des approches citées dans le tableau VII ci-dessus. Pour les différents stades du statut vitaminique, on retiendra :

a/- La carence

La majorité des experts définissent la carence comme une concentration de 25(OH)D inférieure à 25-30 nmol/l (10-12 ng/ml), seuil corrélé à l'ostéomalacie (11,48,115,117, 130). Ce palier peut aussi être qualifié de déficit sévère. La carence nécessite un traitement.

D'autres seuils ont été proposés : inférieur à 12,5 nmol/l (5 ng/ml) par exemple pour l'ENNS 2006 (Etude Nationale nutrition Santé) (134), ou à 20 nmol/l (8 ng/ml). Plus récemment, un accord professionnel a conclu à une carence pour un taux de 25(OH)D en dessous de 50 nmol/l (20 ng/ml). Ces auteurs dont l'Endocrine Society (ES) se basent sur le fait qu'il existe des cas de rachitisme chez des patients ayant des taux de 25(OH)D inférieurs à 40 - 45 nmol/l (115). Un taux de vitamine D supérieur à 50 nmol/l protégerait ainsi globalement du rachitisme et de l'ostéomalacie.

b/ L'insuffisance

Il n'existe pas encore de consensus clair sur la définition d'insuffisance par rapport au déficit ou à la carence, ni sur les valeurs seuils entre ces états. Certains auteurs n'établissent pas ce palier d'insuffisance. Pour d'autres, c'est une étape intermédiaire créée pour caractériser, chez les sujets âgés, l'hyperparathyroïdie secondaire avec comme corollaire un risque augmenté de fracture et se situe entre ostéomalacie et existence d'effets délétères pour la santé. Pour Souberbielle (5) le déficit est ce qu'il faut éviter chez tout le monde et l'insuffisance est ce qu'il faut éviter pour au moins un certain nombre de patients.

Lips et l'IOF (International Osteoporosis Foundation) définissent l'insuffisance en vitamine D à partir d'un seuil de 25(OH)D en dessous duquel il existe des effets délétères pour la santé osseuse du fait de l'hyperparathyroïdie et du remodelage osseux qui en découlent (136-137).

Généralement, pour l'insuffisance on retrouve des fourchettes comprises :

- entre 25 et 50 nmol/l (10 et 20 ng/ml) : seuils historiques définissant la déficience à partir desquels on préconisait la supplémentation.
- entre 25 à 75 nmol/l (10 et 30 ng/ml) (117).
- entre 50 et 75 nmol/l (20 et 30 ng/ml) pour l'US-ES (115)

Selon la littérature, on retrouve pour un même niveau d'hypovitaminose D un qualificatif différent ce qui engendre des problèmes de comparaison.

Pour certains auteurs, cette zone d' "insuffisance" ne devrait pas être mentionnée dans les comptes rendus d'analyses, car c'est dans cette zone d'incertitude des seuils que la configuration du patient prend tout son sens : diagnostic et traitement seront différents selon qu'il s'agit d'un patient âgé avec une fragilité musculaire ou osseuse (qu'on supplémentera) ou d'un adulte jeune en sortie d'hiver (qui pourra reconstituer ses réserves naturellement).

c/- Le statut optimal ou les valeurs recommandées

Tous les auteurs ne sont pas unanimes : le seuil inférieur du statut optimal peut se situer à 50 nmol/l (20 ng/ml), 75 nmol/l (30 ng/ml), 80 nmol/l (32 ng/ml), 100 nmol/l (40 ng/ml), 110 nmol/l (44 ng/ml). Les valeurs basses sont plutôt anciennes. Les plus élevées, plus récentes, ont été choisies pour les effets extra-osseux de la vitamine D (2,3,48,77,115,128,130,137).

c. 1/ - Six experts internationaux réunis en 2005 ont redéfini le statut vitaminique normal par une concentration de 25(OH)D supérieure à 75 nmol/l (30 ng/ml). Aux USA, en 2011, l'Endocrine Society (US-ES) (115), de même qu'en France le GRIQ (117), l'Académie Nationale de Médecine (ANM) en 2012 et les laboratoires d'analyses médicales préconisent cette norme (3,18,49,80,113).

Cette proposition d'un seuil minimal à 75 nmol/l (30 ng/ml) pour définir le "statut optimal" de l'individu repose sur les résultats des études précédemment citées. C'est la concentration minimale requise afin d'optimiser l'absorption intestinale du calcium et de prévenir la réaction hyperparathyroïdienne secondaire, optimisant ainsi les effets squelettiques de la vitamine D (diminution du risque de fractures et de chutes) et ce chez certaines personnes dites à risque de déficit en vitamine D. Entre 75 et 110 nmol/l (30 et 44 ng/ml) les réserves seront alors "suffisantes" et le statut vitaminique D qualifié de "optimal" (62,72,83,133,138-139).

c. 2/ Les opposants au seuil de 75 nmol/l :

- L'Institute of Medicine (IOM) dans un rapport en 2011 fixe la concentration minimale optimale pour la santé osseuse à 50 nmol/L (20 ng/ml) (48). Ce seuil est obtenu à partir de la fréquence d'apparition de maladies osseuses ou le risque de les développer (ostéomalacie). Tableau VIII.

Ce seuil de normalité à 50 nmol/l (20 ng/ml) a été retenu en 2003 par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), par l'ENNS en 2006 (134), par des sociétés savantes australiennes, belges... et par la société européenne "ESCEO" en 2013 justifiant qu'au-delà il n'y aurait pas de bénéfice en terme de santé osseuse sauf pour les sujets âgés à risque de chute et/ou fracture, chez qui le seuil serait fixé à 75 nmol/l (30 ng/ml). L'IOF en 2010 avait élargi le champ d'application du seuil de 75 nmol/l à l'ensemble de la population âgée (137).

Ces opposants contestent le concept d'insuffisance en vitamine D, le seuil de 75 nmol/l et l'existence d'un "plateau optimal" sanguin de PTH quand la concentration sanguine de 25(OH)D est supérieure à 30 ng/ml. Pour eux, il n'y a pas d'argument solide pour fixer des seuils de normalité différents pour certaines personnes dites à risque de déficit en vitamine D et pour l'ensemble de la population adulte. De plus 97,5 % de la population générale n'ont pas de troubles osseux, quand la vitamine D est au moins à 50 nmol/l.

Définitions	IOM 2011 (48)		GRIO 2011 (117)		US-ES 2011 (115)		ANM 2012 (49)		autres*	
	nmol/l	ng/ml	nmol/l	ng/ml	nmol/l	ng/ml	nmol/l	ng/ml	nmol/l	ng/ml
Carence			< 25	< 10	< 50	< 20	< 30	< 12	< 25	< 10
Déficit									25-50	10-20
Insuffisance			25-75	10-30	50-75	20-30			50-75	20-30
Taux recommandés	> 50	> 20	75-175	30-70	75-250	30-100	> 50** > 75**	> 20** > 30**	> 75	> 30
Toxicité***	> 125	> 50	> 375	> 150	> 250	>100	> 200	> 80	> 250	>100

Tableau VIII : Principales valeurs seuils du statut vitaminique D validées par les sociétés savantes.

* autres : des sociétés d'endocrinologie et les KDIGO (142)

** selon l'apport journalier en calcium

*** on ne parle plus de "toxicité" mais de "possible intoxication"

Une bataille d'expert s'est engagée et les deux positions s'affrontent sur la méthode de calcul de ce seuil. Pour l'IOM, l'US-ES n'aurait intégré dans ses études que des populations à haut risque, ce qui ne correspond pas au reflet de la population générale (140-141). En fait, IOM et US-ES ne traitent pas des mêmes sujets : l'US-ES s'intéresse à la vitamine D pour des pathologies identifiées, alors que l'IOM va axer ce seuil pour définir des apports nutritionnels conseillés à la population générale.

- D'autres auteurs proposent des valeurs plus élevées pour le seuil optimal comme 100 nmol/l (40 ng/ml)(77). Ces taux supérieurs pourraient être nécessaires pour l'obtention de certains effets extra-osseux. A partir des essais contrôlés randomisés, les valeurs optimales obtenues sont spécifiques du résultat clinique observé pour une pathologie. Il est alors envisageable d'admettre des valeurs optimales différentes selon la pathologie d'intérêt.

d/- La possible intoxication

Une limite supérieure acceptable du statut optimal se situerait entre 150 et 200 nmol/l (60 et 80 ng/ml) ce qui est suffisamment éloigné de la concentration minimale associée à une possible intoxication à la vitamine D à 375 nmol/l (150 ng/ml). Les signes biologiques d'une intoxication à la vitamine D (hypercalciurie, hypercalcémie) n'apparaissent pas pour des concentrations inférieures à 250 nmol/l (100 ng/ml) et on peut donc raisonnablement élever la limite supérieure de 25(OH)D jusqu'à 250 nmol/l (100 ng/ml) (18,115). De plus, cet intervalle de valeurs 150-200 nmol/l correspond aux concentrations maximales retrouvées dans des populations exposées à un ensoleillement intense apportant des UVB toute l'année (exemple des Massais qui ont naturellement comme plage de valeurs 75 à 200 nmol/l (30 à 80 ng/ml) (129).

Mais il est nécessaire d'être prudent car il existe des courbes en "U" dans certaines relations entre la concentration en vitamine D et le risque relatif de certaines maladies (cardiovasculaires, certains types de cancer, performances fonctionnelles, mortalité) avec par exemple une augmentation du risque pour des concentrations à partir de 125-150 nmol/l (50-60 ng/ml) (48).

L'HAS précise en 2013 (53) qu'il n'a pas été possible de définir un seuil de toxicité pour les concentrations en 25(OH)D et on retrouve de grandes variations selon les auteurs. Tableau VIII.

Critiques et limites des définitions de seuils :

- Les données épidémiologiques donnent un caractère informatif quant à l'augmentation d'un risque clinique (128) mais ne suffisent pas pour définir un seuil de 25(OH)D (ni de 50 nmol/l, ni de 75 nmol/l). Les résultats issus des études d'intervention portent sur les conséquences osseuses de l'hypovitaminose D. Elles n'ont pas été réalisées le plus souvent sur une population en bonne santé mais chez la femme ménopausée ou chez des sujets âgés dont la physiologie est très différente de celle de la personne adulte (77,80). De plus, les valeurs de références ainsi calculées seraient spécifiques du résultat clinique observé propre à une pathologie. On a vu que pour obtenir une amélioration des effets extra-osseux des seuils plus élevés étaient requis mais encore mal définis.

- Les différentes méthodes de dosage de la 25(OH)D utilisées dans les diverses études et l'absence de standardisation ajoute une difficulté de comparaison et d'établissement des seuils (124). Les seuils ont été établis sur les résultats d'études observationnelles qui eux-mêmes proviennent de dosages effectués avec la trousse RIA de Diasorin et qui donne des

valeurs généralement plus basses que celles obtenues par LC/MS/MS. Ces seuils devraient donc être réévalués.

- Les valeurs de référence devraient être déterminées pour chacune des techniques de dosage. Ainsi les fabricants de réactifs demandent aux laboratoires d'établir leurs propres intervalles de référence en fonction de la population testée. La plupart des fabricants propose cependant une étude faite selon les directives EP28-A3c du CLSI dans une population donnée (américaine le plus souvent) ou recommandent comme valeurs seuils celles mentionnées par l' IOM ou celles de la dernière colonne du Tableau VIII. Si bien qu'en France notamment, les valeurs de référence présentées dans les comptes rendus d'analyses varient encore aujourd'hui d'un laboratoire à un autre et sont souvent représentatives de populations américaines.

Aussi, l'HAS a demandé aux biologistes de mentionner sur le compte-rendu d'analyses les valeurs des seuils et à quoi elles se réfèrent. Ceux-ci devraient mentionner les seuils afférents à la pathologie d'intérêt mais elle est inconnue du laboratoire la plupart du temps. De plus, il faudrait tenir compte de l'âge, du sexe, de la saison...(53)

En conclusion

Tous les experts insistent sur la difficulté de définir un seuil objectif d'insuffisance vitaminique et proposent que toute décision de supplémentation soit fondée sur des critères cliniques, d'autant plus que les politiques de supplémentation ne sont pas les mêmes selon les pays. Il faut garder à l'esprit que l'insuffisance en vitamine D n'est pas en soi une maladie, mais une situation clinique exposant à un risque accru de diverses pathologies.

Le débat reste ouvert concernant les valeurs optimales de concentration en 25(OH)D. La redéfinition des seuils à 50 et 75 nmol/l aura des retentissements sur la prévalence de l'hypovitaminose D et sur l'appréciation des apports nutritionnels conseillés (ANC) qui deviennent ainsi insuffisants pour atteindre cette nouvelle cible.

5. Hypovitaminose D : prévalence, étiologie, dépistage.

5.1 Prévalence de l'hypovitaminose D

La prévalence de l'hypovitaminose D varie selon les seuils retenus pour définir le déficit (carence et/ou insuffisance). Cependant, quels que soient les seuils utilisés, toutes les études épidémiologiques mettent en évidence une prévalence globale élevée de l'hypovitaminose D à travers le monde. Avec la révision du seuil de normalité à 75 nmol/l (30 ng/ml), on estime à 1 milliard le nombre de personnes touchées (3,21,117).

Le plus grand pourcentage de taux de 25(OH)D inférieur à 25 nmol/l (<10 ng/ml) se retrouve en Asie du Sud, Amérique Centrale et au Moyen-Orient. Contrairement aux idées reçues, cette prévalence est donc aussi élevée dans les pays où l'ensoleillement est important, ceci en raison des comportements d'éviction solaire, du port de vêtements traditionnels couvrants et du phototype cutané (3,49,115).

Au seuil de 75 nmol/l, à des latitudes supérieures à 40° comme en Europe, selon la population testée et la période de l'année, la prévalence de l'insuffisance varie pour la France de 50 % à 100 % des individus (143-144). Selon l'étude de Lips, la situation dans les autres pays européens n'est pas meilleure (143). Par contre, pour des latitudes plus élevées comme dans les pays scandinaves, la prévalence est moins élevée que dans les autres pays européens en raison du recours fréquent aux suppléments multivitaminés (voire à l'huile de foie de morue chez les Islandais !). Tableau IX.(113).

Etude	Population	Lieu	% d'insuffisance en vitamine D (taux < 75 nmol/l)
DHEage Souberbielle et al, 2001 (139)	60-79 ans, en bonne santé	Région parisienne	59,6
SUVIMAX, Chapuy et al, 1997 (145)	35-60 ans, en bonne santé	France toutes régions	78
Fardellone et al, 1995 (144)	84 ans, en institution, ostéoporose	Picardie, région parisienne, Montpellier	100
Lips et al 2006 (143)	68 ans de moyenne, femmes ostéoporotiques	France	49,7
		Suisse	63,3
		Pays-Bas	52,0
		Royaume-Uni	74,5
		Allemagne	68,0
		Espagne	64,7
		Suède	37,3

Tableau IX : Prévalence de l'hypovitaminose D dans des études françaises et européennes.

Influence de la latitude et des saisons

Au niveau d'une zone géographique plus restreinte comme la France des variations de prévalence sont induites par la latitude et les saisons. Le pourcentage de personnes ayant une carence sévère avec des taux de 25(OH)D en dessous de 30 nmol/l (12 ng/ml) passe de 7% sur la Côte d'Azur à 29% dans le Nord. La concentration sérique de 25(OH)D suit un cycle saisonnier avec une diminution de la concentration sérique en hiver, parallèle à une augmentation de la concentration sérique de PTH. Sous nos latitudes, les valeurs les plus basses sont donc trouvées en Janvier-Mars, les valeurs les plus élevées au début de l'automne.

Quelques résultats d'études françaises :

- En 1997, Chapuy et al (139) s'est appuyé sur l'étude SU.VI.MAX (SUpplémentation en Vitamines et Minéraux Anti-oXydants) qui a suivi 1579 français en bonne santé âgés de 35 à 60 ans de 1994 à 1995. Le déficit (< 75 nmol/l soit < 30 ng/ml) concerne 75 % des citoyens français en hiver dont 14 % en état de carence (< 30 nmol/l soit < 12 ng/ml) (145).

- En avril 2012, l'Institut de Veille Sanitaire Français a publié un Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire (BEH) décrivant les résultats de l'Etude Nationale Nutrition Santé (ENNS) réalisée entre février 2006 et mars 2007 auprès de 1587 adultes âgés de 18 à 74 ans de France métropolitaine et sans supplémentation en vitamine D (134,146).

▫ Selon les valeurs de référence définies par l'ENNS (Tableau X, ligne a), il ressort que :

- la concentration moyenne en 25(OH)D était de 57,5 nmol/L (23 ng/ml).
- plus de la moitié de la population avait un statut vitaminique jugé normal (> 50 nmol/l)
- 36,7 % des adultes présentaient un risque de déficit (25 - 50 nmol/l).
- moins de 5% des adultes présentaient une déficience modérée (12,5 -25 nmol/l).
- la prévalence d'une déficience sévère ($< 12,5$ nmol/l) était quasi nulle.

▫ Mais, si on analyse la même étude en se référant aux normes recommandées par le GRIO, (Tableau X, ligne b) avec un statut optimal > 75 nmol/l, la prévalence de l'hypovitaminose D devient plus élevée (80%) et près de 5 % de la population se trouve en état de carence (52).

a) Concentration en 25(OH)D en nmol/l (ng/ml)	$< 12,5$ (< 5)	12,5 - 25 (5 - 10)	25 - 50 (10 - 20)	> 50 (> 20)
ENNS Premiers résultats (2007) en %	0	4,4	36,7	58,9
b) Concentration en 25(OH)D en nmol/l (ng/ml)		< 25 (< 10)	< 50 (< 20)	< 75 (< 30)
ENNS Résultats définitifs (2012) en %		4,8	42,5	80,1

Tableau X : Statut en vitamine D de la population française âgée de 18 à 74 ans (ENNS).

En France le déficit en vitamine D est très fréquent et toutes les tranches de population sont touchées par l'hypovitaminose D.

- Le sexe entre peu en compte dans le déficit en vitamine D. En moyenne, les hommes ont des concentrations légèrement plus élevées que les femmes.

- Aux États-Unis, près de 40 % des femmes enceintes auraient une insuffisance en vitamine D ($\leq 37,5$ nmol/l ou 15 ng/ml). En Iran, 80 % des femmes enceintes ont un taux < 25 nmol/l (10 ng/l) contre 18 % en Angleterre (109). Les femmes enceintes accouchant l'hiver ou au printemps auraient les taux les plus bas. En Belgique une étude de 2008 a montré : que seuls 12% des femmes enceintes et 14% des parturientes avaient un taux optimal de vitamine D (> 75 nmol/l), une carence sévère (< 30 nmol/l soit 12 ng/ml) chez 21% des femmes enceintes et 32% des mamans. Plus de 80 % des femmes ayant récemment accouché présentent un déficit en vitamine D (147).

- En France, depuis l'enrichissement des laits infantiles, la prévalence de l'hypovitaminose D chez les enfants a diminué. En 2005, une enquête par courriel a montré la quasi-disparition des rachitismes du nourrisson et une diminution des hypocalcémies dans les services de pédiatrie. Cependant, malgré la substitution, on constate une recrudescence des cas de rachitisme. Une étude lyonnaise en 2010 a montré que 75 % d'enfants âgés de 7 à 15 ans étaient carencés en vitamine D, dont 30 % avec une insuffisance et 45 % avec un déficit (86). Les nourrissons à peau pigmentée ou passés prématurément au lait de vache ainsi que

les enfants de migrants ou de milieux défavorisés ou ceux de familles pratiquant des régimes alimentaires particuliers (végétalisme strict par exemple) sont particulièrement touchés (62).

- L'insuffisance se retrouve aussi chez les sujets jeunes, adolescents ou adultes jeunes de moins de 30 ans. Aux Etats-Unis, 42 % des adolescents vivant en milieu urbain avaient un taux de 25(OH)D \leq à 50 nmol/l, 24,1 % un taux \leq à 37,5 nmol/l et chez 4,6 % d'entre eux, les valeurs mesurées étaient $<$ à 20 nmol/l. Chez des adolescents parisiens, le taux moyen de 25(OH)D était de 58 nmol/l au sortir de l'été et de 21 nmol/l à la fin de l'hiver (124). Même en fin d'été, 25 % au moins des adolescents ont des taux de 25(OH)D $<$ à 50 nmol/l (20 ng/ml).

- L'étude française tirée de la cohorte Suvimax a montré que 78 % des femmes d'âge moyen avaient un taux \leq à 75 nmol/l et 14 % un taux \leq à 30 nmol/l (12 ng/ml) (145). Il y a peu de différence dans la prévalence de l'insuffisance en vitamine D entre été et hiver : les femmes en insuffisance en vitamine D l'hiver ont du mal à corriger spontanément leur carence l'été.

- D'après une étude cohorte menée en 2006 sur 8 532 femmes (âge minimal de 48 ans) 90% des femmes françaises ménopausées étaient déficientes en vitamine D. Sur ces mêmes critères, le chiffre européen était de 80% (148). Dans un dépistage de l'ostéoporose, 32% des femmes avaient un taux $<$ à 50 nmol/l et 72 % un taux $<$ à 75 nmol/l.

- Chez des femmes ostéoporotiques, le pourcentage de valeurs de 25(OH)D \leq à 75 nmol/l est de 50 à 64% (143). Pour la même valeur seuil, le pourcentage atteint même 97% chez des patientes hospitalisées pour fractures ostéoporotiques, 21% d'entre elles ayant même des taux $<$ à 15 nmol/l. Des observations ont été faites en France en 2008 chez des femmes ostéoporotiques ou ostéopéniques : près de 90 % ont un taux de 25(OH)D inférieur à 75 nmol/l, plus d'une sur deux un taux inférieur à 50 nmol/l (124). Une autre étude de Fardellone en 1998 portant sur une population similaire avait trouvé des taux moyens de 32,5 nmol/l (13 ng/ml), même dans le Midi de la France.

- La prévalence de l'hypovitaminose D augmente avec l'âge (de 60% à 60 ans à 95% à 90 ans). En Europe, une étude a montré que 80% des personnes âgées avaient des taux de 25(OH)D en dessous de 75 nmol/l (30 ng/ml). On retrouve une moyenne de 85 % d'après les principales études françaises (149). Dans l'étude de Schmidlin et al. portant sur des patients hospitalisés, la quasi-totalité des patients présentaient une insuffisance en vitamine D ($<$ 75 nmol/l) : 97,6 % en été et 98,8 % en hiver (150). Toutes les études montrent à des degrés variables une forte prévalence de l'insuffisance et de la carence en vitamine D dans la population de personnes âgées.

- La prévalence d'insuffisance et de déficit en vitamine D était en 2009 de l'ordre de 75% et 30% respectivement dans l'insuffisance rénale chronique (76). Ces taux augmentent avec l'aggravation de la fonction rénale de manière indépendante de l'âge, du sexe et du poids. Dans une autre étude, en 2011, 55 % des insuffisants rénaux (stade 4 pré-dialyse) et 58 % des dialysés (stade 5) sont en insuffisance ($<$ 75 nmol/l) et ce malgré la supplémentation. Chez les transplantés rénaux l'insuffisance concerne 75 % à 90 % des patients.

Ainsi, on peut conclure que l'hypovitaminose D est très fréquente, avec une prévalence allant de 50 à 100% des sujets selon la latitude, la saison et les caractéristiques de la population concernée. Le fait de vivre dans une région ensoleillée n'est pas synonyme de production optimale de vitamine D. Indépendamment des valeurs seuil utilisées, on note une augmentation de la prévalence en raison du mode de vie. Le pourcentage de personnes avec un taux sanguin de 25(OH)D dans la norme a diminué de 45 à 23 % entre 1988 et 2004 aux Etats-Unis.

5.2 Etiologie de l'hypovitaminose D

Les causes de l'hypovitaminose D sont multiples. Elles sont principalement liées aux facteurs régulant la synthèse du cholécalciférol (cf chap 2.3.1) (2,3,10). En 2009, l'IOF a confirmé la liste des différents déterminants du statut vitaminique D. On peut y retrouver des :

- facteurs non modifiables :
 - extrinsèques : latitude, saison
 - intrinsèques : phototype, âge, IMC, sexe
- facteurs modifiables :
 - port de vêtements couvrants, application de crèmes solaires
 - sorties en plein air
 - apports alimentaires : habitudes alimentaires, supplémentation
- certaines pathologies : rénale, hépatique, cœliaque, certains traitements.

Ces facteurs sont propres à chacun et expliquent l'hétérogénéité des valeurs de 25(OH)D retrouvées à travers les études épidémiologiques.

On reprendra ici quelques facteurs étiologiques importants qui auront un retentissement sur l'identification des populations à risque et donc sur les décisions préventives, thérapeutiques et diagnostiques (dont l'indication du dosage)

5.2.1 Facteurs de risque de l'hypovitaminose D

- **l'ensoleillement** : c'est la principale étiologie et elle est multifactorielle. La durée d'ensoleillement selon l'endroit où on vit, la pratique de sorties en plein air (sportive ou non), la pigmentation de la peau (la mélanine tout comme les crèmes solaires fait écran à l'absorption des UV), les habitudes vestimentaires avec le port de vêtements plus ou moins couvrants sont autant de facteurs de risque d'hypovitaminose D, y compris dans les régions fortement ensoleillées (8,117). La néo-synthèse cutanée qui couvrirait plus de 70 % de nos besoins en vitamine D serait passée en raison de nos modes de vie actuels à 10 ou 25 %. En France on retrouve dans les taux de prévalence une différence entre le nord et le sud du pays et, en fonction des saisons, le taux de 25(OH)D peut varier de 40 % entre l'été et le début du printemps (117,145,146).

- **l'âge** : les problématiques liées à l'âge sont diverses. Tout d'abord, la structure de la peau change avec l'âge : elle devient plus fine et sa capacité de synthèse du 7-DHC diminue (réduction d'environ 75 % après 70 ans) ainsi que celle d'absorption des UV (23-24). D'autre part l'absorption intestinale de la vitamine D se réduit avec l'âge ainsi que la synthèse rénale du calcitriol (117,136).

- **l'indice de masse corporelle (IMC)** : la quantité de masse adipeuse fait varier la proportion de stockage de la vitamine D. Un IMC > 30 kg/m² (indice de Quételet) correspond à un stade d'obésité fréquemment associé à un déficit en vitamine D. Ainsi la prévalence du surpoids, de l'obésité et du diabète suit celle de l'insuffisance en vitamine D (27,49). La fréquence des carences chez les patients obèses est de 61 % et celle des insuffisances de 90 % contre respectivement 12 et 32 % chez les témoins appariés pour l'âge, le sexe, l'origine ethnique et l'exposition solaire. Après sa mise en réserve dans le tissu adipeux, la vitamine D pourrait théoriquement être relarguée en cas de diminution d'apport, qu'il soit endogène (en période hivernale) ou alimentaire (suite à une chirurgie gastrique par exemple). Mais des études ont montré que cette vitamine D séquestrée contribue peu au maintien du taux sérique de 25(OH)D lors d'une diminution des apports. Cependant, il a été observé après une chirurgie gastrique de type by-pass, une élévation du taux de 25(OH)D pendant une durée limitée à quelques mois (2). Puis un déficit se crée rapidement dû à la diminution d'absorption de nombreux aliments, notamment celle des vitamines liposolubles.

- **les apports alimentaires** : la quantité de vitamine D provenant des apports alimentaires peut varier selon les habitudes alimentaires mais restera toujours inférieure aux besoins (134,146). Les suppléments introduites dans les produits laitiers ou autres nutriments sont insuffisantes et d'autre part, la consommation de lait a nettement diminué en particulier chez les adolescents. Cependant les moyennes de 25(OH)D sont plus élevées dans les pays qui ont instauré une politique de supplémentation des produits alimentaires en vitamine D (États-Unis, certains pays nordiques).

- **le statut physiologique** : la grossesse et l'allaitement engendrent une surconsommation de vitamine D indispensable à la croissance du fœtus puis du nouveau-né et donc un risque de carence important chez la mère surtout celles accouchant en hiver ou au printemps (109). Il y a également un risque de carence chez les nouveau-nés allaités au sein exclusivement.

- **certaines pathologies et traitements** :

- toute anomalie d'absorption des graisses comme la maladie cœliaque, la maladie de Crohn, la mucoviscidose, la pancréatite chronique, les chirurgies bariatriques entraînent une diminution du taux de vitamine D. La supplémentation par voie orale est assez inefficace.

- certaines pathologies hépatiques génèrent des anomalies dans le transport ou la synthèse (synthèse de la DBP, enzymes de l'hydroxylation hépatique).

- les pathologies rénales

- syndrome néphrotique avec pertes rénales de la 25(OH)D liée à la DBP.

- insuffisance rénale chronique : la diminution de synthèse de la 1,25(OH)₂D est due à la perte de la masse néphrotique et à l'augmentation du FGF23 en réponse à l'hyperphosphatémie.

- l'hyperthyroïdie, responsable d'une accélération du catabolisme de la 25(OH)D.

- les anomalies génétiques produisant des variants du récepteur VDR (résistance à la vitamine D : rachitisme pseudo-carenciel de type II par mutation/délétion récepteur VDR) ou des cytochromes (enzymes d'hydroxylation sur le C25 ou le C1 de la vitamine D avec défaut de production de la 1,25(OH)₂D : rachitisme pseudo-carenciel de type I)

- certaines maladies chroniques (cancers, alcoolisme) par défaut de synthèse. Les chimiothérapies aggravent de façon très nette l'hypovitaminose D.

- des pathologies réclamant une non exposition au soleil comme le lupus érythémateux ou des traitements provoquant une photosensibilisation.

- l'hyperparathyroïdie primaire, qui engendre un excès de transformation de 25(OH)D en 1,25(OH)₂D, d'où une concentration basse de 25(OH)D. Le même phénomène se produit via les macrophages dans les granulomatoses, sarcoïdose, tuberculose et certains lymphomes.

- certaines traitements comme l'isoniazide ou le kétoconazole inhibant l'hydroxylation, les médicaments qui augmentent la dégradation de la vitamine D en favorisant l'hydroxylation en C24 : stéroïdiens, anticonvulsivants (diphénylhydantoïne, phénobarbital), glucocorticoïdes, rifampicine, cholestyramine, les immunosuppresseurs en prévention des rejets de greffes, les corticothérapies au long cours et les traitements antirétroviraux. Les traitements de l'infection VIH conduisent à des taux effondrés de 25(OH)D alors que les taux de 1,25(OH)₂D sont normaux voire élevés (90).

On se trouve à l'heure actuelle dans la situation délicate où la part de vitamine D apportée par l'alimentation est faible, la néosynthèse cutanée couvrant auparavant une part très importante des besoins se retrouve considérablement réduite du fait du mode de vie moderne et la capacité de stockage de vitamine D très limitée. Ceci explique en grande partie la forte prévalence de l'insuffisance en vitamine D.

5.2.2 Populations à risque

D'après la détermination des différents facteurs étiologiques on peut identifier des populations à risque de carence en vitamine D :

- les femmes enceintes et allaitantes
- les enfants allaités
- les enfants jusqu'à l'âge de 2 ans non supplémentés
- les personnes peu exposées au soleil
- les femmes portant des vêtements couvrant
- les sujets à peau foncée ou noire
- les populations en hiver vivant sous les latitudes supérieures à 42°
- les végétariens et surtout les végétaliens
- les personnes sujettes aux malabsorptions chroniques lipidiques : maladie cœliaque, maladie de Crohn, mucoviscidose, gastrectomie partielle, pancréatite chronique
- les personnes atteintes de maladies héréditaires du métabolisme de la vitamine D
- personnes sous certains traitements médicamenteux : anti-épileptiques...
- les personnes atteintes d'insuffisance rénale chronique ou de syndrome néphrotique
- les personnes âgées : en institutions ou personnes confinées au domicile ou hospitalisées
- les personnes ostéoporotiques ou ayant eu une fracture de la hanche
- une maladie favorisant l'ostéoporose ou un (des) médicament(s) inducteur(s) d'ostéoporose
- les sujets faisant des chutes à répétition

Quand un patient appartient à une de ces populations à risque, il faut estimer son statut vitaminique.

Deux groupes de population sont particulièrement à risque d'hypovitaminose D :

- Les personnes âgées car elles cumulent plusieurs causes d'insuffisance en vitamine D : une dénutrition et une absorption intestinale moins efficace, une peau plus fine, une moindre durée d'exposition au soleil (le temps où les "anciens" passaient des heures à bavarder sur un banc en plein air est révolu), une insuffisance rénale fréquente, de nombreux traitements médicamenteux (10,23). Parallèlement, la sarcopénie, l'altération des fonctions cognitives et l'augmentation du risque des chutes (et de fracture associé à cause de l'ostéoporose), ainsi que l'immunosénescence et les états inflammatoires chroniques sont associées au déficit en vitamine D. Ils augmentent le risque de dépendance et donc de mise en établissement de soins (117). Une étude a montré un lien significatif entre les concentrations de 25(OH)D et le risque d'institutionnalisation (2). Or, les personnes âgées hospitalisées ou vivant en institution sont encore plus pénalisées car ce mode de vie ne permet l'accès ni à un ensoleillement minimum ni à une alimentation adaptée (dénutrition fréquente) (144).

Le tableau XI met en parallèle le statut vitaminique D, la prévalence et la clinique que l'on peut retrouver dans la population âgée. L'hypovitaminose D prédit l'accélération du processus de dépendance et de perte d'autonomie chez la personne âgée, et l'aggravation du syndrome de fragilité (149).

- Les personnes atteintes de pathologies rénales. L'IRC dès ses premiers stades est également un facteur de risque important de déficit en 25(OH)D. Avant 2003, les patients insuffisants rénaux, à tous les stades de la maladie (stades 2 à 5 avant dialyse et patients dialysés), présentaient des concentrations sériques de 25(OH)D basses, voire effondrées. L'instauration d'une supplémentation régulière, suite aux recommandations internationales de prise en charge des troubles phospho-calciques publiées en 2003, n'a pas permis de maîtriser l'hypovitaminose D chez ces patients (142). En 2011, 58 % des patients dialysés présentaient encore des taux circulants en dessous de 75 nmol/l.

Le syndrome néphrotique est également une situation à haut risque de déficit en vitamine D3, indépendamment de la perte de fonction rénale. Une protéinurie élevée est en effet accompagnée d'une fuite urinaire de 25(OH)D3 liée à la DBP. Un déficit sévère en vitamine D peut alors s'installer. Ce mécanisme intervient en fait chez tout patient présentant une protéinurie importante.

		10	20	30	40	80	150
ng/mL							
25OHD sérique		→					
nmol/L		25	50	75	100	200	375
Statut vitaminique D (Terme anglais)	Carence (Deficiency)	Insuffisance (Insufficiency)	Insuffisance (Insufficiency)	Normalité ? (Sufficiency?)	Normalité ? (Sufficiency?)	Toxicité à long terme ?	Toxicité (Toxicity)
Prévalence (%)	25	35	25	10	5	-	-
Manifestations cliniques et biologiques	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Osteomalacie ▪ Hyperparathyroïdie ▪ Effets non osseux 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hyperparathyroïdie ▪ Effets non osseux 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Effets non osseux 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Effets non osseux ? 	Statut optimal	?	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hypercalcémie ▪ Lithiase calcique
Supplémentation	Au moins 800-1000 UI de vitamine D ₃ par jour avec un contrôle du taux sérique de 25OHD à 3 mois			?	Non	Stop	Stop

Tableau XI. Les différents statuts vitaminiques D chez la personne âgée (149)

5.3 Dépistage des hypovitaminoses D, les indications du dosage de la 25(OH)D

Devant le niveau de prévalence de l'insuffisance, on peut se demander s'il est utile de pratiquer un dosage systématique élargi à l'ensemble de la population. Celui-ci serait très coûteux pour des bénéfices cliniques trop faibles. Mais, sans connaître le taux de 25(OH)D initial, quelle dose de supplément vitaminique D administrer à un patient pour qu'il atteigne le seuil de 75 nmol/l ? Peut-on supplémenter tout le monde sans dosage préalable et sans craindre l'intoxication ?

Le dosage de la vitamine D ne doit concerner que les sujets à risque. De nombreuses instances nationales et internationales ont proposé des recommandations concernant l'indication du dosage de la vitamine D. Bien que ces recommandations ne soient pas toujours homogènes car élaborées dans des contextes de populations différentes, elles s'accordent dans l'ensemble sur l'objectif du dosage.

Ce dosage doit permettre soit de mettre en évidence un déficit quel qu'en soit l'origine, soit de prendre une décision en termes d'objectifs thérapeutiques. Dans le premier cas, il s'agit de toutes les populations à risque clinique d'insuffisance du fait d'une pathologie osseuse ou connue pour induire un déficit en vitamine D. Dans le second cas, il s'agit de surveiller un traitement par la vitamine D : parfois avant le traitement pour adapter les schémas d'attaque et d'entretien en fonction du statut initial, mais surtout après pour s'assurer que l'objectif est atteint (151-152).

5.3.1 Recommandations nationales sur les indications du dosage de vitamine D :

Nous allons passer en revue quelques-unes des recommandations émises par les sociétés savantes françaises et internationales en matière d'indication de dosage de 25(OH)D. Les indications spécifiques à une pathologie donnée sont reportées dans le tableau XII.

- **L'ANM en 2012** préconisait "qu'un dosage de la 25(OH)D sérique soit pratiqué plus fréquemment au cours des maladies osseuses, digestives, intestinales ou rénales, chez le sujet âgé présentant des chutes à répétition sans explication, et finalement lorsqu'un bilan phosphocalcique est demandé au même titre que la PTH sérique. Au contraire, un dosage de la 25(OH)D chez le diabétique, chez le sujet atteint d'un cancer (poumon, sein ou prostate), chez le sujet présentant une maladie auto-immune et le sujet HIV positif peut se discuter".

- le **GRIO** en 2011 a émis des recommandations pour le sujet adulte (117) : "Dans toutes les situations au cours desquelles l'objectif thérapeutique est d'obtenir un taux optimal de 25(OH)D pour une prise en charge adaptée, il est nécessaire de connaître la valeur initiale du taux de 25(OH)D pour adapter les schémas d'attaque et d'entretien de la supplémentation". Le GRIO détaille ensuite les situations dans lesquelles ce dosage prend toute son importance : cf tableau XII. En revanche, le GRIO suggère une approche préventive de supplémentation systématique, sans dosage, chez tous les sujets de 65 ans et plus, puisque le risque de surdosage est quasi nul. En 2012, le GRIO actualise les recommandations concernant le traitement médicamenteux de l'ostéoporose post-ménopausique : "la connaissance du statut vitaminique D de l'individu est un prérequis à la mise en place de tout traitement spécifique" (153).

- **L'HAS** a évalué des situations cliniques dans lesquelles le dosage de la vitamine D était pertinent : ▫ En **2007**, la HAS indique que le suivi osseux du transplanté rénal doit comprendre le dosage sérique de 25(OH)D et de PTH à 3 mois et un an post transplantation, puis une fois par an (154).

▫ En **2009**, la HAS recommande le dosage sérique de la 25(OH)D dans le bilan de la personne âgée présentant des chutes répétées (pas pour les chutes accidentelles) (84). De même il doit être pratiqué avant et après une chirurgie bariatrique : les déficits devront être corrigés avant l'intervention et des facteurs favorisants recherchés. Les dosages sont recommandés 3 et 6 mois après l'intervention, puis au moins annuellement (155).

▫ Au vu de l'inflation des demandes de dosage et du coût conséquent, la CNAMTS (Caisse Nationale d'Assurance Maladie des Travailleurs Salariés) a mandaté la HAS pour avis sur l'utilité clinique du dosage de la vitamine D dans le but de maîtriser les dépenses de santé. Celle-ci a rendu son rapport d'évaluation en octobre **2013** en mentionnant que : "en dehors des cas de suspicion de rachitisme ou d'ostéomalacie, des indications retenues en 2007 et 2009 et des préconisations des AMM des traitements pharmacologiques de l'ostéoporose où les indications sont considérées comme acquises, aucun bénéfice n'a été retrouvé dans les essais cliniques à doser la vitamine D en prévention d'un risque ou pour suivre ou traiter des pathologies associées à un déficit" (53).

Pour l'HAS, le dosage de 25(OH)D n'est pas recommandé faute de seuil de concentration en 25(OH)D défini :

- dans l'objectif de diminuer le risque des surdosages, fractures, maladies infectieuses, allergies, maladies auto-immunes, diabète, maladies cardiovasculaires, hypertension artérielle, insuffisance rénale chronique, évènements indésirables de grossesse, mortalité, ou

- dans l'objectif d'améliorer les performances fonctionnelles ou cognitives, le profil lipidique, les signes cliniques dans des pathologies comme sida, cancer, hépatites
- dans la mise en œuvre ou le suivi d'un traitement par vitamine D.

Suite au rapport de la HAS, l'UNCAM a préconisé le déremboursement partiel de ces dosages et a émis une liste de recommandations à l'usage des prescripteurs et des biologistes : le dosage de la vitamine D n'est pas nécessaire chez le sujet sain. De même, chez celui-ci, une supplémentation en vitamine D peut être instaurée et suivie sans dosage de la vitamine D, le risque d'effets toxiques aux doses recommandées (jusqu'à 4 000 UI/jour) étant nul. Le décret limitant le remboursement du dosage de la vitamine D est paru au JO le 14 août 2014. En septembre 2014, la version actualisée de la nomenclature des actes de biologie médicale (NABM) reprend les six situations cliniques préconisées par l'HAS comme conditions limitatives de prise en charge :

- lors d'une démarche diagnostique visant à confirmer ou infirmer un rachitisme (suspicion de rachitisme) ;
- lors d'une démarche diagnostique visant à confirmer ou infirmer une ostéomalacie (suspicion d'ostéomalacie) ;
- au cours d'un suivi ambulatoire de l'adulte transplanté rénal au-delà de trois mois après transplantation ;
- avant et après une chirurgie bariatrique;
- lors de l'évaluation et de la prise en charge des personnes âgées sujettes aux chutes répétées ;
- pour respecter les résumés des caractéristiques du produit (RCP) des médicaments préconisant la réalisation du dosage de vitamine D.

En dehors de ces situations, il n'y a pas d'utilité prouvée à doser la vitamine D, notamment lors de l'instauration ou du suivi d'une supplémentation par la vitamine D.

Cette version de la NABM est donc opposable aux prescripteurs et aux biologistes médicaux. L'ordonnance devra porter la mention "non remboursable" ("NR") si la prescription du dosage ne rentre pas dans les champs décrits et le biologiste devra en informer le patient.

- Ces indications ont été considérées comme beaucoup trop restrictives par de nombreux experts français (ANM, GRIO,...) qui en **2014** vont demander l'élargissement du champ des indications à :

- toutes les situations de fragilité osseuse (pas seulement l'ostéomalacie et le rachitisme) comme l'ostéoporose et la surveillance des traitements (glucocorticoïdes, par exemple) ou des maladies pouvant induire un risque de fracture,
- tous les patients atteints d'IRC (dialysés ou non et pas seulement les transplantés rénaux),
- dans toute situation de malabsorption intestinale (pas uniquement la chirurgie bariatrique),
- lors d'une exploration des troubles du métabolisme phosphocalcique incluant le dosage de la PTH (comment peut-on interpréter une élévation de la PTH avec une calcémie normale sans connaître la valeur de la 25(OH)D ?)
- aux patients dont l'état clinique peut évoquer une surcharge en vitamine D (coliques néphrétiques à répétition, néphrocalcinose) (156,157).

Ces opposants aux restrictions mettent aussi en avant le fait que le prix de remboursement du dosage a nettement diminué passant de 24,30 euros (B90) à 11,34 euros (B42) (acte 1139).

	US-ES 2011	ANM 2012	GRIO 2012	HAS 2014
Rachitisme et ostéomalacie	x	x	x	x
Ostéoporose avérée	x	x	x	
Fractures de fragilité	x			
Chutes à répétition	x	x	x	x
Maladie ou traitement inducteur d'ostéoporose			x	
Douleurs osseuses ou musculaires		x		
IRC (clairance <50 ml/mn)	x	x	x	
Syndrome néphrotique				
Hyperparathyroïdie	x		x	
Insuffisance hépatique	x		x	
Obésité (IMC > 30)	x		x	
Diabète			x	
Malabsorption intestinale	x	x	x	
Chirurgie gastrique			x	x
Manque de synthèse cutanée (1)			x	
Pathologie chronique sévère : maladie auto-immune, cancer			x	
Transplantation d'organes	x			x
Malabsorption	x		x	
Traitements (2)	x		x	x
Allaitement / grossesse	x		x	
Pathologies granulomateuses (3)	x			
Populations à phototype V ou VI	x			

Tableau XII : Indications du dosage de la 25(OH)D

(1) : manque d'exposition solaire : femmes voilées, lieu de vie (latitude),

(2) : anticonvulsivants, antirétroviraux, antifongiques, cholestyramine, rifampicine, corticoïdes.

(3) : sarcoïdose, tuberculose, histoplasmosse, coccidiomycose, béryllose, certains lymphomes.... Ces maladies granulomateuses sont à risque d'hypercalciurie et d'hypercalcémie lorsque le taux de 25(OH)D dépasse 75 nmol/l.

5.3.2 Recommandations internationales

- La British Colombia Medical Association dans le "Vitamin D testing protocol" (2010) émet des recommandations s'adressant à une population adulte ne présentant ni insuffisance rénale, ni désordres osseux, ni malabsorption intestinale : pas de préconisation du dosage dans le cas de dépistage routinier de carence ou d'insuffisance, ni avant et après supplémentation vitaminique de cette même population ou d'une population à risque.
- La Canada Medical Association dans des recommandations sur l'ostéoporose en 2010 préconise de ne pas doser la vitamine D chez les patients à faible risque de déficit. Pour les patients traités pour ostéoporose un dosage devra être effectué 3 à 4 mois après supplémentation et sans contrôle ultérieur une fois la correction établie (25(OH)D > 75 nmol/l). Pour les individus présentant des fractures à répétition, une perte osseuse malgré un traitement pour ostéoporose, ou une maladie associée affectant l'absorption ou l'action de la vitamine D, une supplémentation à hautes doses (> 2 000 UI/j) peut être nécessaire et donc un suivi de la concentration en 25(OH)D requis.
- L' OHTAC : Ontario Health Technology Advisory Committee en 2010 : le dosage de la vitamine D n'est pas justifié en routine pour une population à risque moyen de déficit en vitamine D à l'exception des patients souffrant d'ostéoporose, de rachitisme, d'ostéopénie, de syndromes de malabsorption, de maladie rénale ou hépatique ou traités avec des médicaments affectant le métabolisme de la vitamine D.
- La société américaine d'endocrinologie (US-ES) en 2011 : donne des indications de dosage de la vitamine D chez les patients à haut risque de déficit (115) : voir Tableau XII. Pour les patients à faible risque de déficit en vitamine D, le dosage n'est pas recommandé.

5.3.3 Synthèse des recommandations

En faisant une synthèse des différentes propositions d'experts, on peut recommander le dosage de la 25(OH)D :

- devant une suspicion de rachitisme ou d'ostéomalacie
- devant une ostéoporose avérée ou un risque accru d'ostéoporose (par des traitements comme les corticoïdes, anti-rétroviraux, anticonvulsivants, antifongiques, anti-aromatases ou analogue de la GnRH (gonadoréline), héparines...) ou une maladie favorisant l'ostéoporose (les malabsorptions, maladie de Crohn, ménopauses précoces, Cushing, hyperthyroïdie...)
- lors d'un traitement par les bisphosphonates qui peut aggraver une carence en vitamine D
- chez les patients à haut risque de fractures où le taux de 60 nmol/l doit être atteint
- chez les sujets âgés faisant des chutes à répétition ou ayant des douleurs musculaires
- en présence de signes d'intoxication secondaire à l'hypercalcémie (calcifications, lithiases).
- dans le cadre d'une chirurgie bariatrique et en particulier type by-pass gastrique.
- dans l'IRC aux stades 3-5, chez les patients dialysés et chez les transplantés rénaux.
- pour des patients reconnus comme sujets à risque et dont l'objectif thérapeutique est d'obtenir un taux optimal de 25(OH)D pour une prise en charge adaptée. La connaissance de la valeur initiale permet d'adapter les schémas d'attaque et d'entretien.
- dans le cas d'une synthèse cutanée diminuée : personnes âgées, obèses, à faible exposition solaire (vie en institution, incarcération, vêtements couvrants) ou phototype élevé ou contre-indication à l'exposition solaire (mélanomes, lupus par exemple)
- lors d'une pathologie chronique sévère : hépatopathies, néphropathies, diabète, obésité, broncho-pneumopathies chroniques obstructives, insuffisance cardiaque et/ou respiratoire, cancers, les maladies auto-immunes, hyperthyroïdie ou hyperparathyroïdie
- chez les femmes enceintes accouchant l'hiver ou au printemps ou allaitantes. Chez les femmes enceintes voilées ou de population migrante qui sont souvent en situation de grande carence. Dans les autres situations le dosage chez la femme enceinte n'est pas indiqué.

- chez les patients atteints d'une granulomatose et en particulier d'une sarcoïdose chez lesquels il est conseillé de maintenir le taux de 25(OH)D entre 37 et 50 nmol/l (15 - 20 ng/ml)
- lors d'une exploration du métabolisme phosphocalcique et surtout lors de la persistance de signes cliniques d'hypocalcémie ou d'hypercalcémie ou de la découverte d'une concentration en PTH élevée sans autres signes biologiques perturbés associés. Le dosage du calcium, phosphore, phosphatases alcalines n'est pas prédictif d'une carence en vitamine D.
Le dosage de la vitamine D n'est pas recommandé dans les cas où le rôle de vitamine D n'est que suggéré (cancers, maladies cardiovasculaire et inflammatoires...), en raison de l'absence de valeur cible de 25(OH)D définie.

Remarques :

- Chez les personnes âgées, notamment celles vivant en institution et qui souffrent d'ostéoporose, l'augmentation des concentrations de PTH ne dépasse pas toujours les limites physiologiques. Aussi est-il important de détecter ces "insuffisances" en vitamine D, car la supplémentation en vitamine D et en calcium permet de diminuer la PTH et la résorption osseuse. Ceci réduit par conséquent très significativement l'incidence des fractures non vertébrales et les facteurs de comorbidité associées.

Pour Souberbielle, il est nécessaire de doser la vitamine D (ainsi que calcium et PTH) avant de débiter un traitement de l'ostéoporose (surtout par bisphosphonates).

- Pour les patients atteints d'insuffisance rénale, il existe des recommandations internationales concernant le dosage de la 25(OH)D : les KDIGO (Kidney disease improving global outcomes)(142). Dès le stade 3 de l'IRC (DFG < 60 ml/mn/1,73 m²), le dosage de la 25(OH)D devient indispensable à l'interprétation du bilan phosphocalcique, au contrôle de la PTH, de la phosphatémie et à la prévention de la maladie osseuse. Le maintien de la 25(OH)D autour de 75 nmol/l nécessite un dosage régulier, au moins une fois par an, pour les stades 1 à 5. Les KDIGO suggère qu'en cas de DFG inférieur à 45 ml/mn/1,73m² (stade 3b) et lorsque le taux de PTH intacte est au-dessus de la limite normale supérieure, une insuffisance en vitamine D doit être recherchée. Au vu de la prévalence élevée de l'insuffisance en vitamine D, certains auteurs comme l'ANM préconisent le dosage de 25(OH)D une à deux fois par an chez tous les patients en IRC, des stades 3 à 5 (76). Un seuil de 75 nmol/l avec un niveau optimal compris entre 75 et 200 nmol/l (30 et 80 ng/ml) est recommandé dans l'IRC. L'HAS n'ayant pas trouvé dans les études chez des patients insuffisants rénaux la valeur d'un seuil à atteindre en 25(OH)D permettant de diminuer le risque de maladie osseuse ou de fracture chez ces patients, elle s'en remet aux néphrologues pour les recommandations des indications de dosage dans cette population.

- Des études portant sur des patients sous hormonothérapie ont montré que lorsque les taux en 25(OH)D atteignent 100 à 120 nmol/l (40 à 48 ng/ml), une diminution des douleurs musculo-squelettiques liées à l'utilisation des inhibiteurs de l'aromatase est observée. De plus, des doses élevées sont parfois nécessaires quand il existe une résistance partielle à la correction de la carence et le dosage de 25(OH)D devient alors indiqué.

En pratique, il n'est pas utile de mesurer la concentration sanguine en vitamine D dans la population générale. Cette mesure doit être réservée à certaines situations de suspicion de carence ou de surveillance de traitement. L'hétérogénéité des nombreuses recommandations concernant les indications du dosage de la 25(OH)D provient de la disparité des contextes cliniques et géographiques dans lesquels ces protocoles ont été établis. L'élargissement du champ des indications serait le reflet de découvertes plus récentes sur les bénéfices apportés par la vitamine D.

6. Prévention et traitement des hypovitaminoses D

Pour la prévention et le traitement des hypovitaminoses D on se base sur les apports recommandés en vitamine D et calcium. Ces recommandations ne tiennent pas compte des apports cutanés étant données les grandes variations d'ensoleillement selon la saison et la situation géographique.

6.1 Prévention

Il n'y a pas de consensus sur les apports conseillés en vitamine D ni sur les modalités de la prévention (2,3,48,49,115,127)

6.1.1 Les apports quotidiens recommandés

- Les besoins quotidiens en vitamine D ont été évalués au départ pour contrer le rachitisme chez l'enfant et l'on proposait le contenu d'une cuillère à café d'huile de foie de morue par jour (représentant 400 UI soit 10 µg de vitamine D). Pour un adulte, les besoins étaient estimés à la moitié, soit 200 UI par jour.

- En **2001**, l'ANSES (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail), le CNERNA et le CNRS ont proposé une grille de recommandation des apports nutritionnels conseillés (ANC) définis pour couvrir les besoins de 97,5 % de la population : 10 µg/j (400 UI/j) pour les enfants de moins de 3 ans et pour les femmes enceintes et allaitantes, 5 µg/j (200 UI/j) chez les adultes et enfants de plus de 3 ans, et 10-15 µg/j (400 à 600 UI/j) chez la personne âgée. Tableau XIII colonne (1) (158). Les mêmes bases de valeurs se retrouvent dans les tableaux de l'OMS de 2004. Ces valeurs sont calculées en considérant que la population s'expose normalement au soleil, en sachant que la production endogène cutanée couvre 50 à 70 % des besoins quotidiens. Par contre la teneur en 25(OH)D présente naturellement dans les aliments n'est pas prise en compte dans ces études, or ces quantités sont non négligeables.

- Les données INCA2 (étude Individuelle Nationale des Consommations Alimentaires 2 : **2006-2007**) de l'ENNS (Etude Nationale Nutrition Santé) précisaient que l'alimentation apporte en moyenne à un adulte 2,6 µg/j (104 UI/j) (soit environ 50 % des ANC) mais seulement 1,9 µg/j (76 UI/j) chez les enfants de 3 à 17 ans (159). Ceci est loin de couvrir les besoins.

Avec la découverte des effets extra-osseux de la vitamine D, la pratique du dosage de la 25(OH)D et les nouvelles valeurs de référence, les ANC semblaient nettement insuffisants pour atteindre la valeur cible minimale des 75 nmol/l (130,160), notamment chez l'adolescent (période de formation du squelette) et chez l'adulte de plus de 50 ans ou chez les populations s'exposant peu au soleil. Ces apports conseillés ont donc été réévalués.

- En novembre 2011, l'IOM a proposé d'augmenter les valeurs des ANC à 600 UI/j (soit 15 µg/j) Tableau XIII (colonne 2) sur la base de la santé osseuse (DMO, ostéomalacie, risque de fractures...) et d'une synthèse endogène minimale (48).

- En 2011, d'autres instances ont proposé des valeurs bien supérieures pour les apports : de 400 à 1 000 UI/j chez l'enfant, de 800 à 1 000 UI/j chez l'adulte et de 1 000 à 2 000 UI/j chez la femme enceinte ou allaitante par exemple. Valeurs sur lesquelles s'est basée l'Endocrine Society pour établir son guide de recommandations (ES-Clinical Practice Guideline : ESCPG) Tableau XIII colonne (3) (115).

- L'Académie Nationale de Médecine a réévalué ses taux en **2012** (ANM 2012) et on peut les comparer avec ceux d'autres instances (49,137). Tableau XIII colonne (4). L'ANSES quant à elle s'est autosaisie en 2012 et a réévalué les taux en BNM (Besoin Nutritionnel Moyen) pour les situer à 400 UI/j (10 µg/j) chez l'adulte (161).

Apports quotidiens recommandés en vitamine D	ANSES 2001 (1)	IOM 2011 (2)	ES-CPG 2011 (3)	ANM 2012 (4)
0-1 an	800-1 000	400	400-1 000	800-1 000
1-3 ans	400	600	600-1 000	600-800
4-8 ans	200	600	600-1 000	600-800
9-18 ans	200	600	600-1 000	800-1 000
19-50 ans	200	600	1 500-2 000	800
51-70 ans	200	600	1 500-2 000	1 000-1 500
> 70 ans	400-600	800	1 500-2 000	>1 500
Grossesse et lactation	400	600	1 500-2 000	800-1 000

Tableau XIII : Besoins quotidiens en vitamine D (UI/jour) recommandés selon l'âge d'après plusieurs sociétés savantes. (400 UI = 10 µg)

Des disparités apparaissent mettant en avant ici aussi le manque de consensus de la communauté scientifique internationale sur les apports conseillés :

- l'IOM répertorie des taux bien inférieurs à mettre en rapport avec sa valeur seuil de carence inférieur à 50 nmol/l (< 20 ng/ml) et se limite aux bénéfiques pour la santé osseuse. Le manque de données solides ayant un impact clinique sur les pathologies autres que musculosquelettiques ne permet pas d'établir des recommandations avec des besoins plus importants (48).

- l'Endocrine Society suggèrent des apports minimum de 600 UI/j chez les adultes pour couvrir les effets osseux et musculaires mais de 1 500 à 2 000 UI/j pour atteindre le seuil d'une 25(OH)D de 75 nmol/l (30 ng/ml) et bénéficier des effets extra-osseux (115,140)

- les apports recommandés par l'ANM 2012 se rapprochent de ceux de l'Endocrine Society. Ils ont été, par rapport aux recommandations de l'ANSES de 2001, multipliés par 4 à 5 chez l'adolescent (période de formation du squelette) et par 5 à 7 chez les adultes entre 50 et 70 ans. Cette période correspond à la fin de la ménopause chez les femmes, avec des risques accrus d'ostéoporose.

- une étude récente a montré que des apports de 1 000 UI/j sont nécessaires pour que 95 % de la population obtiennent des taux de 25(OH)D supérieurs à 50 nmol/l (20 ng/ml).

En moyenne, la valeur recommandée chez l'adulte sain est de 871 UI (400 à 2 000 UI/j) dans l'objectif d'atteindre un taux de 72 nmol/l. En l'absence d'exposition solaire, 1000 UI/j de vitamine D sont ainsi requis pour atteindre un taux de 25(OH)D entre 75 et 125 nmol/l (30 et 50 ng/ml). Ces apports doivent aussi être associés à des apports suffisants en calcium, que ce soit par l'alimentation ou par supplémentation médicamenteuse, pour assurer une bonne santé osseuse et éviter une hyperparathyroïdie secondaire (152).

Actuellement les valeurs de ces apports journaliers, toujours basés sur la prévention osseuse, reste toujours en discussion tant que le niveau de preuve des effets extra-osseux reste insuffisant et que les seuils de l'hypovitaminose D restent contestés. En attendant, quelles stratégies peut-on mettre en place pour les valoriser et couvrir nos besoins en vitamine D ?

6.1.2 Optimisation "naturelle" des apports

Deux stratégies peuvent être évoquées de par les sources de synthèse de la vitamine D : l'exposition solaire et l'alimentation.

a) Le bénéfice solaire

L'exposition aux UVB est une façon simple d'augmenter la synthèse de vitamine D et n'expose pas à un risque d'intoxication car l'excès de vitamine D produite est stocké dans la masse grasseuse ou métabolisé en produits inactifs (8). D'après Holick, une exposition au soleil, bras et jambes, 5 à 30 minutes, deux fois par semaine entre 10 et 15 heures accroît significativement le taux de 25(OH)D (3,29,138). On estime que l'exposition durant 12 minutes environ, dans l'hémisphère nord, d'avril à octobre, apporte à une personne l'équivalent d'une consommation orale de 3 000 UI de vitamine D3). De plus la vitamine D produite par la peau présente une demi-vie environ deux fois plus longue que la vitamine D ingérée (13).

Toutefois, le temps d'exposition recommandé doit être modulé en fonction de la saison, la latitude, l'horaire d'exposition, l'âge, le phototype (22,26,30). En effet, nous avons vu qu'au-dessus d'une latitude de 33° (comme en France) il n'est pas possible de synthétiser la vitamine D durant les mois d'hiver et certains auteurs ont proposé l'utilisation de lampes UVB.

La limite de cette recommandation est le risque accru de vieillissement prématuré de la peau et de mélanome et d'autre part il ne semble pas que l'on puisse atteindre les seuils recommandés de 25(OH)D avec la seule exposition solaire aussi bien agencée soit elle. Elle restera un facteur favorisant. L'académie nationale de Médecine recommande d'ailleurs de "toujours corriger un déficit en vitamine D par des suppléments alimentaires".

b) Le bénéfice alimentaire

On a vu que l'alimentation courante ne couvre pas les besoins en vitamine D. Les apports alimentaires sont de l'ordre de 100 UI/j (2,5 µg) en France alors que les apports quotidiens conseillés sont de 800 à 1 000 UI par jour. Aux USA, depuis 1930 de nombreux produits sont enrichis en vitamine D (lait, céréales, jus d'orange, yaourts, margarines, etc...). En France, les laits infantiles sont enrichis depuis 1992; les laits, laitages, fromages, yaourts depuis 2001; les huiles depuis 2003. Ces produits enrichis sont d'un coût plus élevé et non accessibles à tous. De plus, les quantités minimales ingérées provenant de la supplémentation ne suffisent pas à assurer les besoins journaliers recommandés et à faire baisser la prévalence de l'insuffisance vitaminique D (les apports en vitamine D d'une alimentation enrichie sont augmentés de 10 et 17 % par rapport à une alimentation non enrichie) (161). Une étude conduite dans ce sens aux Etats-Unis a montré que la prévalence de l'hypovitaminose D n'a pas diminué depuis l'introduction d'aliments enrichis. Mais elle aurait eu une incidence significative sur la diminution du pourcentage de sujets carencés.

Les suppléments diététiques sur ordonnance ou en vente libre sont également une source importante de vitamine D pour de nombreuses personnes.

Cas particuliers des nourrissons : la concentration en vitamine D du lait maternel est basse (en moyenne 40 UI/l), soit environ 20 à 30 % des concentrations plasmatiques maternelles. Il est plus simple de supplémenter un nourrisson durant la période d'allaitement que de supplémenter la mère avec de fortes doses de vitamine D. Ainsi en France, la circulaire ministérielle de 1992 a conduit à décider un enrichissement des laits infantiles à raison de 400 à 600 UI/L ce qui a entraîné une diminution rapide de la prévalence des cas de rachitisme qui a été divisée par trois entre 1992 et 1994. Mais cet enrichissement est insuffisant : il faudrait qu'un nourrisson boive 1 litre de lait par jour pour atteindre les 400 UI/j recommandés. De plus, dans les populations défavorisées l'utilisation de ce lait enrichi n'est pas courante à cause du surcoût engendré. Aussi les nourrissons français reçoivent une supplémentation en vitamine D durant les deux premières années de vie.

Une étude de 2013 a montré que seule une supplémentation avec 1 600 UI/j (vs. 400 et 800 UI/j) permettait à 97,5 % des enfants d'atteindre des taux de 25(OH)D > 75 nmol/l.

Chez l'enfant prématuré, il faut apporter 800 à 1 500 UI/jour de vitamine D pour pouvoir atteindre une concentration de 25(OH)D > à 75 nmol/l. Une situation de réplétion en vitamine D est nécessaire pour éviter l'apparition d'une ostéopénie chez ces enfants.

En conclusion, les apports quotidiens en vitamine D doivent être réévalués et doivent tenir compte de l'âge, de la saison, du phototype et des pathologies de l'individu. C'est pour cette raison qu'il n'existe toujours pas de consensus sur les modalités de la prévention. Mais un déficit en vitamine D doit être toujours corrigé par une supplémentation par voie orale.

6.2 Traitement des hypovitaminoses D

Deux grandes lignes de schéma de supplémentation existent en fonction de la connaissance ou non du statut vitaminique D initial. Il n'y a pas de consensus aujourd'hui pour définir les patients chez qui la supplémentation se fera avec dosage préalable ou pas (7,48,115, 162). Cependant de par les rôles de la vitamine D, on peut distinguer dans la population générale :

- les sujets pouvant se retrouver en état de carence du fait de leur situation physiologique : nourrissons, enfants et adolescents, femmes enceintes, personnes âgées. Ils ont besoin d'un apport conséquent de vitamine D (voir le tableau des ANC) que seule la supplémentation orale médicamenteuse peut corriger et cela sans dosage préalable de la 25(OH)D.
- des personnes qui présentent un déficit avéré chez qui le dosage de la 25(OH)D permettra de corriger et d'ajuster les doses.
- des personnes ayant une pathologie extra-osseuse et dont on voudrait diminuer certains symptômes, sans oublier que l'intérêt d'un traitement par vitamine D pour réduire les risques sur l'incidence de ces pathologies n'a pas été démontré à ce jour.

6.2.1 Traitements systématiques sans dosage préalable : traitement des hypovitaminoses D supposées

La supplémentation systématique sans dosage préalable n'est préconisée que pour certaines populations jugées à risque de déficit : prématurés, nouveau-nés, femmes enceintes, sujets obèses, personnes avec une peau foncée ou voilées, personnes âgées ou vivant en institution.... Il est difficile d'établir des protocoles de supplémentation au vu de la grande diversité des apports naturels (ensoleillement, alimentation). Mais un apport de vitamine D chez le sujet "sain", ne nécessite effectivement aucun dosage préalable, puisque le risque de surdosage aux doses recommandées est quasi nul.

- **femme enceinte** : devant la prévalence de l'hypovitaminose D chez la femme enceinte et la connaissance d'un déclin important de 25(OH)D observé au cours du troisième trimestre, le GNGOF (Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français) recommandait une supplémentation en vitamine D de 80 000 UI en 2001 puis de 100 000 UI en 2007, au 6 ou 7^{ème} mois de grossesse, sans dosage préalable, permettant d'atteindre un niveau optimal de 25(OH)D pour la mère et limitant aussi les hypocalcémies du nouveau-né (109).

Cette supplémentation systématique au cours de la grossesse reste cependant controversée. Certains auteurs la jugent trop tardive et insuffisante : l'ANM recommande un apport de 1 000 UI/j au cours du dernier trimestre de la grossesse ou l'apport d'une dose unique de 100 000 à 200 000 UI au cours du septième mois. Il n'y a pas de cas de tératogénicité rapporté à la prise de vitamine D. Par contre, la HAS est plus réservée et précise dans ses recommandations de 2005 qu'en dehors des femmes dont la grossesse se déroule en hiver, ou qui s'exposent peu au soleil, ou portant des vêtements couvrants, ou ayant de faibles apports alimentaires, il n'y a pas à prescrire de supplémentation.

Différentes études ont cependant montré l'utilité de majorer les doses de supplémentation en vitamine D pendant la grossesse mais il reste à déterminer la dose optimale de vitamine D à administrer.

- **nourrissons, enfants et adolescents** : des recommandations de supplémentation systématique pour les enfants sont clairement établies depuis plus de vingt ans (163) :

- Nourrisson allaité : 1 000 à 1 200 UI/j toute la durée de l'allaitement maternel.
- Enfant < 18 mois recevant un lait enrichi en vitamine D : 600 à 800 UI/j.
- Enfant < 18 mois recevant du lait de vache non enrichi en vitamine D : 1 000 à 1 200 UI/j
- Enfant de 18 mois à 5 ans : 2 doses trimestrielles de 80 000 à 100 000 UI en hiver.
- Adolescent de 10 à 18 ans : 2 ou 3 doses de charge de 80 000 à 100 000 UI (dont 2 encadrant l'hiver) ou 1 dose de charge unique de 200 000 UI.

Pour les enfants de 5 à 10 ans aucune supplémentation systématique n'est recommandée et on manque actuellement de données sur leur statut vitaminique.

Pour détecter les enfants et adolescents nécessitant une supplémentation, a été mis en place en 2005 un abaque décisionnel repérant les enfants à risque de carence dont le seuil a été défini à 25 nmol/l (164). En cas de risque particulier (absence d'exposition solaire, forte pigmentation de la peau, maladies digestives, obésité...) les prescriptions peuvent être guidées par un dosage.

- **adulte sain** : la valeur moyenne recommandée de 871 UI/j (400 à 2 000 UI/j) a pour but d'atteindre le taux de 72 nmol/l. Pour un IMC supérieur à 25 kg/m², la dose devra être augmentée. Mais cette solution de donner à *minima* 800 UI/j de vitamine D ou une ampoule de 100 000 UI de vitamine D3 tous les trois mois ne permet d'atteindre une concentration en 25(OH)D de 75 nmol/l (30 ng/ml) que chez un nombre restreint de sujets : des sujets jeunes, sains, et s'exposant au soleil en été.

- **personnes âgées** : dans cette tranche de population où la prévalence de l'hypovitaminose D est de 85 % et les facteurs de risque nombreux, la supplémentation vitaminique semble avoir des effets bénéfiques sur les comorbidités osseuses et non osseuses, comme la réduction du risque de chutes et de fractures ou même la réduction du taux de mortalité globale (136,149). Pour bénéficier des réductions de risque il faut atteindre les seuils de 75 à 100 nmol/l, ce qui demande des apports réguliers de vitamine D d'au moins 800 à 1 000 UI/j chez les sujets de plus de 65 ans.

Ainsi le GRIQO recommande la supplémentation systématique, aux doses de 800 à 1 000 UI/j, voire 1 200 UI/j, sans dosage, chez tous les sujets de 65 ans et plus chez lesquels la

probabilité d'un déficit en vitamine D est extrêmement élevée alors que le risque de surdosage est quasi nul (117). Par contre, l'HAS en 2013 recommandait une supplémentation de 700 à 800 UI/j en vitamine D et en calcium (1 200 mg/jour) pour prévenir des chutes et des fractures, sans dosage de 25(OH)D (52,84).

D'une façon générale, en population gériatrique, il est indispensable de supplémenter en vitamine D et de contrôler les apports calciques. Seulement 15 % des personnes âgées vivant en institution sont supplémentées, alors qu'il s'agit d'une population carencée et cette supplémentation peut se faire sans dosage préalable. Pour les sujets âgés résidents des "maisons de retraite" (EHPAD) ou des établissements de soins de suite et de réadaptation (SSR) ne s'exposant guère au soleil, on conseille la prise en continu d'une ampoule de vitamine D3 de 100 000 UI tous les deux mois pour un IMC normal (< 25 kg/m²) et une ampoule par mois pour un IMC supérieur à 25 kg/m² (165).

Ces recommandations reposent sur des considérations de Santé Publique et d'économie de Santé : la prise en charge est d'un faible coût pour un bénéfice élevé dans cette tranche d'âge (1 ampoule de 100 000 UI de cholécalciférol coûte entre 1 à 2 euros en France).

- **Pour les autres populations à risque** (sujets obèses, femmes voilées...) il n'y a pas de recommandation spécifique concernant une supplémentation systématique sans dosage préalable. D'autre part le manque de données solides relatives aux effets extra-osseux ne permet pas d'établir des recommandations chez les patients souffrant de pathologies autres que musculosquelettiques.

6.2.2 Traitements après dosage : traitement des hypovitaminoses D avérées

6.2.2.1 Les populations concernées

L'HAS a validé des situations dans lesquelles le traitement est délivré après dosage : rachitisme et ostéomalacie, insuffisance rénale chronique et suivi ambulatoire de l'adulte transplanté rénal au-delà de trois mois après transplantation, avant et après chirurgie bariatrique... (cf chap 5.3)

Mais cela peut être étendu à d'autres populations ciblées : insuffisants rénaux, présence d'une hypocalcémie, myalgies inexplicables, sujet chuteur, antécédent de fractures, ostéoporose, traitements par corticoïdes ... Le GRIIO recommande les traitements après dosage car connaître la valeur initiale de la 25(OH)D permet d'adapter le traitement d'attaque et d'entretien (117).

6.2.2.2 Les schémas de supplémentation

De même que pour les objectifs en termes de valeurs sériques, il n'existe pas de protocole validé d'adaptation de la posologie de supplémentation en vitamine D en fonction de sa concentration. Doit-on traiter en dessous de 50 nmol/l ou de 75 nmol/l ou même au-delà pour optimiser les bénéfices extra-osseux de la vitamine D ?

En général, le traitement du déficit mesuré en vitamine D fait appel à deux étapes distinctes : la correction du déficit, puis le maintien d'un statut vitaminique optimal.

a/ - les schémas de correction : la phase d'attaque

Les protocoles de correction sont nombreux : les études sont hétérogènes en terme de posologie à administrer, si bien qu'il n'est pas toujours facile de les comparer. Ils doivent être adaptés au résultat du dosage de la 25(OH)D et donc à la sévérité du déficit. Les modalités du traitement varient de prises allant de 1 000 à 5 000 UI/jour ou de 50 000 UI à 300 000 UI en doses espacées de 3 à 6 mois. Selon l'IOM, la dose maximum tolérable pour un adulte est de 10 000 UI/j (48)

Holick et l'US Endocrine Society (115) ont émis des recommandations de prise en charge d'un déficit en vitamine D et suggèrent le protocole suivant : 50 000 UI par semaine pendant 8 à 12 semaines suivi d'un traitement d'entretien, à adapter au profil du patient. C'est sur ce type de schéma que le GRIO, en France a émis ses recommandations basées sur le taux initial de 25(OH)D (117) :

- si carence (< 25 nmol/l, < 10 ng/ml) : 4 prises de 100 000 UI espacées de 15 jours;
- si insuffisance entre 25 et 50 nmol/l : 3 prises de 100 000 UI espacées de 15 jours;
- si insuffisance entre 50 et 75 nmol/l : 2 prises de 100 000 UI espacées de 15 jours.

Ce traitement se fait *per os* avec des ampoules de 100 000 UI, mais il est possible d'utiliser des ampoules de 50 000, 80 000 ou encore 200 000 UI en répartissant différemment les prises, tous les mois ou tous les deux mois. Par contre, les doses fortes de 300 000 UI ou plus, très espacées (500 000 ou 600 000 UI, une à deux fois par an) sont à éviter, un essai avec 500 000 UI ayant abouti paradoxalement à un excès de chutes et de fractures (74).

D'autres protocoles ont été suggérés avec des posologies plus élevées et pour des pathologies reconnues comme le rachitisme, l'ostéomalacie, l'ostéoporose.

La réponse au traitement dépend du statut vitaminique initial (166). Le gain de 25(OH)D est inversement proportionnel à la valeur basale, et en moyenne il faut apporter 100 UI/j pour augmenter de 2,5 nmol/l (1 ng/ml) le taux sanguin de 25(OH)D. Mais l'augmentation des concentrations de 25(OH)D n'est pas linéaire et paraît d'autant plus importante que le taux initial de 25(OH)D est bas. Donc, pour affiner le dosage, il est également possible de calculer les besoins précis selon les situations : avec 100 UI/j de vitamine D le gain est de 1,75 nmol/l chez un patient dont le taux initial est de 70 nmol/l et de 3 nmol/l pour un patient carencé. On peut également calculer la dose annuelle nécessaire et la répartir sur l'année de façon trimestrielle, mensuelle, hebdomadaire ou journalière, ces modes d'administration donnant des taux sanguins identiques (167). Les différents protocoles de correction doivent aussi prendre en compte les caractéristiques de l'individu : âge, fragilité et surtout IMC (2,3). Chez les sujets âgés, en surpoids, souffrant de malabsorption ou prenant des médicaments affectant le métabolisme de la vitamine D, les quantités doivent être augmentées. Ainsi chez un patient obèse, les doses seront 2 à 3 fois supérieures.

Cependant, l'attitude thérapeutique ne peut se baser que sur le résultat du dosage de la 25(OH)D. S'il est évident de traiter systématiquement un patient carencé (< 25 nmol/l), il n'en est pas de même pour un taux compris entre 50 et 75 nmol/l où la décision thérapeutique différera selon qu'il s'agit d'un patient âgé avec fragilité osseuse ou d'un sujet jeune, sain, en sortie d'hiver. Pour ce dernier, aucune prise en charge spécifique ne se justifie, ni même la réalisation du dosage d'ailleurs.

Surveillance : lorsqu'un dosage pré-thérapeutique a été réalisé, il est logique de s'assurer de la correction de l'insuffisance. Ce dosage de contrôle est habituellement recommandé en fin de traitement, en général 3 mois après la fin du traitement d'attaque pour les traitements journaliers où la 25(OH)D doit atteindre son plateau au bout de 3 - 4 mois, ou juste avant la prise suivante s'il s'agit de prises espacées (117). Celui-ci permettra d'adapter le traitement en fonction du taux obtenu : passage au traitement d'entretien si le taux de 75 nmol/l est atteint ou augmentation des doses (si journalières) ou réduction de l'espacement entre les prises (si espacées) si le taux n'est pas atteint. Il peut être parfois nécessaire de renouveler le traitement d'attaque.

Les données actuelles ne montrent aucun bénéfice à obtenir des taux de 25(OH)D supérieurs à 125 nmol/l (50 ng/ml). Des données suggèrent même une augmentation de la mortalité toutes causes confondues, lorsque les taux de 25(OH)D dépassent cette valeur.

b/ - les schémas d'entretien

Après correction d'une hypovitaminose, il est recommandé de poursuivre par un traitement d'entretien afin de maintenir un taux de 25(OH)D supérieur à 75 nmol/l.

Ces traitements sont apparentés aux schémas de supplémentation systématique : administration d'une dose moyenne de 800 à 1 200 UI/j de vitamine D, qui peut être apportée sous des formes diverses allant d'une prise quotidienne à trimestrielle. Ici aussi il faut tenir compte du profil du patient (âge, poids, pathologies éventuelles...).

En fait on peut retrouver, selon les critères propres au patient, des doses journalières allant de 800 à 1 000 UI/j pour le GRIO et l'IOF (117,137), de 1 500 à 2 000 UI/j pour l'Endocrine Society (115), jusqu'à 4 000 UI/j pour d'autres experts, ou des ampoules de 80 à 100 000 UI de vitamine D3 tous les un, deux ou trois mois pour assurer le maintien d'une concentration sérique de 25(OH)D supérieure à 75 nmol/l. Le choix de la dose journalière ou de la fréquence d'administration des doses espacées dépendra des concentrations de 25(OH)D mesurées sous traitement, de la préférence des patients dans le but de privilégier l'observance. L'avantage de la dose unique est une meilleure compliance du patient.

Surveillance : comme pour le schéma d'attaque, un dosage de contrôle de la 25(OH)D est préconisé après 3 à 4 mois pour des doses quotidiennes et juste avant la prise suivante pour des doses espacées afin de réajuster le traitement. Si le taux de 25(OH)D est trop bas, on pourra adapter la forme galénique, les posologies, et les délais entre les doses pour les administrations suivantes. En général, il est préférable de raccourcir le délai entre deux prises plutôt que d'augmenter les doses.

Par la suite, une fois que le taux optimal est atteint, la personne substituée devrait avoir un contrôle du taux sanguin environ une fois par an (2).

Le suivi de la calcémie n'est pas nécessaire sauf dans certaines situations particulières. Les maladies granulomateuses (sarcoïdose, tuberculose), certaines atteintes fongiques chroniques et certains lymphomes sont à risque d'hypercalciurie et d'hypercalcémie lorsque le taux de 25(OH)D dépasse 75 nmol/l.

Cas particuliers de l'ostéoporose

L'objectif du traitement de l'ostéoporose est de prévenir la survenue des fractures. L'apport moyen conseillé de vitamine D est de 1 068 UI/jour (168). Aujourd'hui, il est consensuel de corriger l'insuffisance en vitamine D avant de traiter l'ostéoporose. De même un apport calcique doit être apporté mais celui-ci ne suffira pas à assurer à lui seul l'homéostasie calcique s'il n'existe pas un niveau adéquat en vitamine D. C'est pour cela que le GRIO dans ses recommandations de 2012 sur la prévention de l'ostéoporose post-ménopausique demande à connaître le statut vitaminique D de l'individu avant la prise en charge d'un sujet ostéoporotique (153).

Cependant la correction du déficit vitamino-calcique ne constitue pas le traitement de fond de l'ostéoporose. Elle est insuffisante pour prévenir avec efficacité et constance la perte osseuse en post-ménopause. Les traitements de fond de l'ostéoporose agissent sur l'inhibition de la résorption osseuse. C'est le cas en particulier des bisphosphonates qui entraînent du fait de leur action une diminution du calcium remobilisé. Ainsi, déficit en vitamine D et bisphosphonates participent tous deux à accroître l'hypocalcémie qui a pour conséquence une élévation secondaire de la PTH qui a son tour va augmenter la perte osseuse et donc le risque de fracture. Au total, on prescrit un traitement efficace pour diminuer le risque fracturaire, mais on réduit nettement son efficacité (25,131). De plus les bisphosphonates réduisent l'activité de la 1 α -hydroxylase et augmentent le catabolisme du

calcitriol ce qui va aggraver une carence en vitamine D lors de l'initiation du traitement. D'autre part, la vitamine D aurait un rôle potentialisateur sur l'effet densitométrique des bisphosphonates (169).

Pour toutes ces raisons, corriger un déficit vitamino-calcique est un préalable à la mise sous médicaments anti-résorbeurs. Un taux entre 75 et 110 nmol/l (30 - 44 ng/ml) est le plus à même d'optimiser les effets musculosquelettiques. Quand un déficit est constaté, donc après dosage, on doit le corriger avec des doses charges proportionnelles au déficit (30 % des femmes prenant ce type de médicaments sont en insuffisance en vitamine D). Des préparations pharmaceutiques existent combinant bisphosphonate et vitamine D (Fosavance®, Adavance®). Les différents traitements ne suppriment pas le risque fractures, mais le diminuent de moitié environ.

Chez le sujet âgé l'ostéoporose est l'une des grandes responsables de la dépendance fonctionnelle et la carence en vitamine D est très fréquente chez les femmes après 65 ans. Il est dommageable que l'UNCAM en 2014 dans sa liste de recommandations ne tienne compte que du risque de chute et n'évoque pas l'ostéoporose pour cette population.

D'une façon générale, vitamine D et calcium doivent être systématiquement associés au traitement de l'ostéoporose, notamment par les bisphosphonates.

Cas particuliers de l'insuffisant rénal

- Les recommandations internationales KDIGO sur la prise en charge des troubles phosphocalciques chez les insuffisants rénaux suggèrent de mesurer la 25(OH)D dès le stade 3 de l'IRC et de corriger le déficit ou l'insuffisance vitaminique de façon similaire à ce qui est préconisé dans la population générale. Le but est de maintenir un taux plasmatique \geq 75 nmol/l. Elles suggèrent aussi de ne pas procéder à une supplémentation en vitamine D de manière routinière mais de suivre les taux de 25(OH)D car lorsque l'IRC progresse une hyperparathyroïdie secondaire apparaît et favorise l'hyperphosphatémie. La supplémentation en vitamine D "native" chez ces patients en IRC ou dialysés ou transplantés rénaux fait baisser les concentrations de PTH (142). La supplémentation entraîne une diminution des effets néfastes osseux et extra-osseux de la carence en vitamine D.

Les protocoles sont variés mais en général comprennent une dose d'attaque de vitamine D native (cholécalférol) qui sera fonction du taux de 25(OH)D initial. Une fois le déficit corrigé, sont prescrits une dose de 800-1 000 UI/jour ou 100 000 UI tous les mois ou tous les deux mois et l'évaluation de la 25(OH)D et de la calcémie (3 à 4 fois par an en dialyse et une fois par an pour le stade 3 à 5 non dialyse). Les dérivés 1 α -hydroxylés ainsi que les calcimimétiques ne sont prescrits qu'en deuxième intention (et non plus systématiquement), et seulement dans le stade 5 de l'IRC où le taux de PTH est élevé et où la fuite de 25(OH)D dans les urines devient importante du fait de sa non réabsorption par le système mégaline-cubiline.

- Chez le transplanté rénal, du fait de l'ostéodystrophie rénale et de l'amyotrophie préexistantes et des protocoles d'immunosuppression comprenant souvent des corticothérapies, une supplémentation avec dosage préalable doit être conservée (170). Il a été montré que les patients transplantés rénaux traités par des dérivés actifs de la vitamine D présentaient moins d'épisodes de rejets aigus.

- Le cas particulier du syndrome néphrotique peut nécessiter des doses correctrices deux fois plus élevées (100 000 UI par semaine) et le taux de 25(OH)D doit alors être suivi tous les deux mois. En suivant l'évolution du taux de 25(OH)D on évite les risques d'intoxication (> 375 nmol/l, > 150 ng/ml) (3).

6.2.3 Les molécules utilisées Vitamine D 2 ou D 3 et le mode d'administration

Le choix de la forme à administrer, vitamine D2 (ergocalciférol) ou D3 (cholécalfiérol), du rythme de la supplémentation (quotidienne ou espacée), de la forme (voie orale ou injectable...) continue d'être débattu. Les pharmacopées considèrent ces hormones stéroïdiennes comme équivalentes et interchangeables. Les spécialités médicamenteuses contiennent soit l'une soit l'autre, plus ou moins hydroxylée. Le choix de la supplémentation en vitamine D2 ou D3 varie selon les pays (4). En France, la vitamine D naturelle est privilégiée. Elle est prescrite sous forme de gouttes en présence d'une insuffisance hépatique ou d'une malabsorption. Les formes métaboliquement actives, hydroxylées (alphacalcidol, calcitriol) sont réservées à des situations spécifiques où est recherché un effet pharmacologique (IRC, hypoparathyroïdie, pseudo-hypoparathyroïdie).

Certains auteurs jugent la vitamine D3 plus "efficace" que la vitamine D2 pour élever la concentration sérique de 25(OH)D (171). Une différence de l'ordre de 30 à 40 % en terme de maintien des concentrations sériques de 25(OH)D a été retrouvée dans une méta-analyse de 2012 (172). Le pic de 25(OH)D plasmatique atteint après administration d'une même dose de D2 ou de D3 (50 000 UI) est le même au 3^{ème} jour mais la 25(OH)D3 a une demi-vie plasmatique plus longue que la 25(OH)D2 permettant de maintenir un statut vitaminique D satisfaisant plus longtemps. Figure 20. L'explication proposée est que la vitamine D2 aurait un métabolisme et une clairance plus rapide (demi-vie plus courte) que la vitamine D3 et des affinités moindres pour la DBP, pour la 25-hydroxylase hépatique et pour le VDR. D'autres auteurs n'ont pas retrouvé ces résultats en utilisant des doses journalières. On peut conclure des nombreuses études effectuées sur ce sujet que cette différence est surtout marquée si l'on utilise des doses "espacées", mais n'est plus observée quand on utilise des doses journalières.

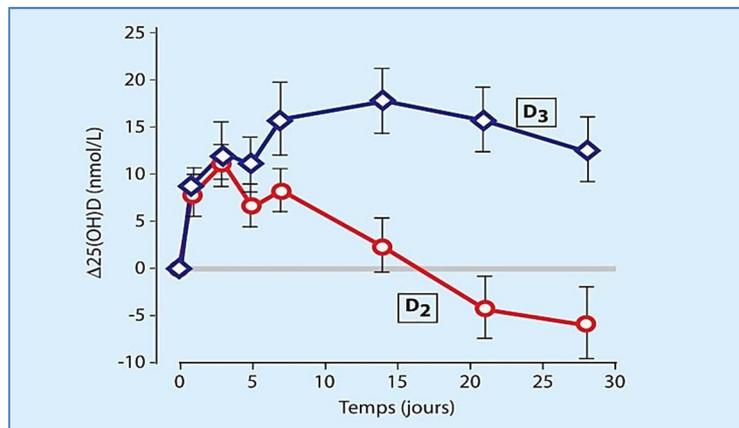


Figure 20 : Evolution des concentrations de 25(OH)D après prise de vitamine D2 ou D3 (25). Augmentation des taux de 25(OH) vitamine D après administration orale d'une dose unique de 50 000 UI de cholécalfiérol ou d'ergocalciférol (171).

Quand on prescrit à doses équivalentes des prises quotidiennes, hebdomadaires ou mensuelles on obtient les mêmes taux plasmatiques de 25(OH)D (167). Par contre pour des doses élevées, en prises espacées, on prescrira de la vitamine D3 pour une meilleure adhésion au traitement. De plus, avec les posologies élevées (prise unique de 300 000 UI), l'effet du cholécalfiérol sur la baisse de la PTH et le turn-over osseux est supérieur à celui de l'ergocalciférol.

Ce serait cette efficacité plus durable qui fait de la vitamine D3 la forme la plus utilisée en France ou aux Pays-Bas et en Belgique. Ce n'est pas le cas partout où la forme D2 reste largement prescrite (moins coûteuse) comme en Amérique du Nord, Australie, Portugal.

Forme galénique

La voie orale est la voie principale d'administration : gélules, capsules, ampoules buvables. Les traitements journaliers se font plutôt en goutte et les traitements mensuels ou plus espacés en ampoules. Il n'y a pas actuellement d'indication à l'administration intramusculaire de vitamine D3 dans la correction du déficit vitaminique. La voie parentérale est réservée à des situations particulières (malabsorption sévère, hypoparathyroïdie postopératoire aiguë).

La vitamine D, liposoluble, sera mieux absorbée lorsqu'elle sera prise au cours d'un repas, surtout s'il s'agit d'une spécialité avec calcium (152). L'absorption intestinale des dérivés hydroxylés serait plus rapide que celle des formes natives qui est de l'ordre de trois jours.

Rythme des prises

La vitamine D peut être prescrite en doses quotidienne, hebdomadaire, mensuelle ou trimestrielle puisque le métabolite 25(OH)D a une demi-vie de l'ordre d'un mois. Une dose journalière de 800 à 1 000 UI correspondrait à une dose de 5 600 à 7 000 UI par semaine, 30 000 UI par mois, 100 000 UI par trimestre, soit environ 300 000 et 400 000 UI par an (167). Dans les services médicaux s'occupant de personnes âgées, les prises mensuelles sont plus facilement gérables pour le personnel soignant. A noter que les posologies trimestrielles ne corrigent pas un déficit important (168).

Principales spécialités commercialisées

Il existe de nombreuses spécialités pharmaceutiques contenant de la vitamine D2 ou D3. Elles sont présentées seules ou en association avec d'autres molécules comme le calcium ou les bisphosphonates. Une liste complète a été diffusée par l'Afssaps en 2009 (118).

La vitamine D2 synthétique (ergocalciférol d'origine végétale) provient de l'irradiation de l'ergostérol obtenu à partir de levure et la vitamine D3 synthétique (cholécalfiérol d'origine animale) provient de l'irradiation du 7 déhydrocholestérol de la lanoline (cire de la laine).

Les spécialités médicamenteuses contenant de la vitamine D se différencient par le degré d'hydroxylation de la molécule, la forme galénique (gouttes ou ampoules buvables) et le dosage exprimé en Unité Internationale (UI). Les concentrations en vitamine D de ces spécialités sont très variables et parfois insuffisantes (Orocal Vitamine D3® ne contient que 200 UI de D3 par comprimé).

Quelques spécialités pharmaceutiques disponibles en France :

- Ergocalciférol seul : Sterogyl®, Uvesterol®
- Ergocalciférol en association : Frubiose® (avec du calcium), Uvesterol ADEC®, Hydrosol Polyvitamine® (avec d'autres vitamines)...
- Cholécalfiérol seul : Adrigyl®, Uvedose®, ZymaD®, Vitamine D3 Bon®.
- Cholécalfiérol en association : Fosavance® ou Adroavance (avec bisphosphonate), Orocal Vitamine D3 (avec du calcium), Calcidose Vitamine D3, Calciprat Vitamine D3, Calperos D3, Densical Vitamine D3, Survitine (avec d'autres vitamines).
- 25(OH)D3 (Calcifédiol) : Dedrogyl®
- 1,25(OH)₂D3 (Calcitriol) : Rocaltrol® (capsules)
- Dérivés 1 α -hydroxylés : Alfalcidol® (ou 1 α -hydroxycholécalfiérol) ou Un-Alfa®.

exemples d'applications : En France, la vitamine D naturelle est privilégiée pour la correction des situations de déficience en vitamine D. Les formes actives sont réservées à des situations particulières comme par exemple :

- le calcifédiol : dans les cas de malabsorption, d'insuffisance hépatique.

- le calcitriol : dans le traitement des ostéodystrophies rénales.
- l'alfacalcidol : dans les rachitismes résistants aux précurseurs de la vitamine D.
- Calcitriol et Un-Alpha : dans l'insuffisance rénale terminale, dans certains diabètes phosphatés avec ostéomalacie, dans l'hypo et pseudo-hypoparathyroïdie et (151).
- Le Stérogyl en gouttes : très utilisé chez l'enfant dans la prévention du rachitisme.

La découverte des nouvelles propriétés de la vitamine D a initié de nombreuses études concernant l'utilisation d'analogues moins hypercalcémiant dans le traitement des maladies auto-immunes ou hyperprolifératives. Parmi ces analogues de la vitamine D, on peut citer, le calcipotriène utilisé dans le traitement du psoriasis (Daivobet®, Daivonex® contenant du calcipotriol, Apsor® du tacalcitol).

L'association d'une supplémentation calcique est discutée, sauf si l'apport calcique alimentaire est insuffisant ou dans les cas d'ostéoporose (2,3)

Dans tous les cas, l'évaluation de la tolérance clinique du traitement doit être régulière et dans certains cas, il peut être nécessaire de surveiller le bilan phosphocalcique (calcium, PTH) et de contrôler les concentrations sériques de 25(OH)D.

6.2.4 Précautions, contre-indication et risques de surdosage

Un seuil de tolérance et d'innocuité de la prise de vitamine D a été validé à 2000 UI/j, soit 50 µg/j par des experts en nutrition.

Dans les études d'intervention, avec des posologies élevées variant de 4 000 UI/j jusqu'à 280 000 UI par semaine, il n'a pas été noté d'effets délétères chez des sujets ayant une fonction rénale normale (166). Une posologie allant jusqu'à 10 000 UI/j semble sans danger, de même qu'un taux sérique inférieur à 375 nmol/l (150 ng/ml) (127,173). Les posologies recommandées dans le traitement des hypovitaminoses D sont en général très éloignées de ces valeurs toxiques et l'hypercalcémie n'est pas à craindre en théorie.

Il faut cependant rester prudent vis-à-vis de la supplémentation en vitamine D chez certains patients à risque d'hypercalcémie, notamment ceux sous thiazidiques, ou ayant une tendance lithiasique ou encore ayant une granulomatose chez lesquels le risque de toxicité serait plus important. Il est alors recommandé de surveiller la calciurie (49,117). Il faut surtout s'assurer que la vitamine D n'est pas associée à du calcium car les lithiases rénales calciques et néphrocalcinoses observées parfois sont davantage dues à la supplémentation en calcium qu'à celle de la vitamine D.

L'hyperparathyroïdie primitive constitue une précaution d'emploi et non une contre-indication à la supplémentation. Cette pathologie coexiste souvent avec une hypovitaminose D et une ostéoporose, ce qui aggrave l'atteinte osseuse et qu'il convient tout de même de corriger, sans forcément craindre une élévation de la calcémie. En fait l'administration de doses fortes de vitamine D à des patients hyperparathyroïdiens permet de faire baisser la concentration en PTH sans augmentation de la calcémie et de la phosphatémie. Il est également recommandé de supplémenter tous ces patients par vitamine D (et calcium si besoin) après parathyroïdectomie afin d'éviter le "hungry bone syndrom" d'une part et d'améliorer leur densité osseuse d'autre part.

Les granulomatoses en poussée (sarcoïdose, Wegener), certains lymphomes ou infections à mycobactéries nécessitent également une vigilance en raison de la tendance hypercalcémique et hypercalciurique. En revanche, dans le cas d'une pathologie stabilisée et bien contrôlée, il paraît indiqué de supplémenter en vitamine D les patients déficitaires (3,117).

7. Hypervitaminose D

La vitamine D peut être toxique à hautes doses. Cependant l'intoxication à la vitamine D est extrêmement rare.

7.1 Le seuil de toxicité

C'est le seuil de concentration en 25(OH)D au-delà duquel apparaissent les symptômes de l'intoxication à la vitamine D. Celui-ci n'est pas défini pour la vitamine D (52).

Ainsi, l'hypervitaminose D peut être définie, selon les auteurs, par une concentration de 25(OH)D allant de "supérieure à 125" jusqu' à "supérieure à 375 nmol/l" (50 à 150 ng/ml) (Tableau VIII)(2,18,173). En réalité, le niveau le plus bas de 25(OH)D pour lequel il a été décrit un cas de toxicité réelle est 200 nmol/l (80 ng/ml) (152). Selon l'Académie nationale de Médecine et l'Endocrine Society, l'intoxication à la vitamine D n'est jamais associée à des concentrations de 25(OH)D < 250 nmol/l (100 ng/ml) (49,115). Le GRIO propose le seuil de 375 nmol/l (150 ng/ml) pour définir la toxicité (117). Cette valeur considérée comme la limite supérieure de sécurité est rarement atteinte (124).

7.2 Les causes de l'hypervitaminose D

- En raison des multiples mécanismes de régulation au niveau cutané, il n'existe pas de risque de toxicité liée à une trop longue exposition au soleil. Après un été passé au soleil, on ne retrouve pas de taux de 25(OH)D > à 200 nmol/l (> 80 ng/ml), ni d'hypercalciurie.

- L'intoxication à la vitamine D ne peut être provoquée que par une supplémentation prolongée à doses excessives (2,3). Mais les études d'intervention qui pourraient définir ce seuil de toxicité sont trop rares et il n'existe pas de données sur la tolérance au long cours, au-delà de 5 ans, de concentrations supérieures à 250 nmol/l ou sur des apports supérieurs à 10 000 UI/j de vitamine D. Cette dose de 10 000 UI/j est considérée consensuellement comme la limite supérieure de sécurité (48,166,173) pour laquelle il n'est pas observé de signes de toxicité comme l'hypercalcémie et l'hyperphosphatémie (49). D'autres études ont d'ailleurs démontré que des doses journalières de vitamine D largement supérieures aux limites de sécurité des ANC (plus de 4 000 UI/j) sont sans conséquence sur la calciurie ou la calcémie (161,166). Les études montrant des effets toxiques ont toutes utilisé des doses de vitamine D au moins égales à 40 000 UI/jour durant plusieurs semaines, voire à 100 000 UI/j durant plusieurs jours (soit 100 fois la posologie recommandée) et où on retrouve des concentrations en 25(OH)D à 625 nmol/l (250 ng/ml)(117).

- Il existe d'autres causes que médicamenteuses au surdosage en vitamine D. Elles sont rares, souvent endogènes, dues à des pathologies comme :

▫ les cas d'hypersensibilité à la vitamine D caractérisés par un défaut de régulation de la 1 α -hydroxylase. Les mutations bi-alléliques de CYP24A1 et la réduction de l'activité de l'enzyme ont été associées à des taux anormalement élevés de la 1,25(OH)₂D chez les individus recevant une supplémentation en vitamine D, explicitant le mécanisme physiopathologique du syndrome de Lightwood ou hypercalcémie idiopathique infantile par hypersensibilité à la vitamine D (20). Ces patients présentent des lésions rénales de type néphrocalcinose et néphrolithiase voire une ostéoporose liée à l'augmentation de la résorption osseuse secondaire à l'élévation de la 1,25(OH)₂D. L'identification de ces patients présentant une hypercalcémie et/ou une hypercalciurie mais surtout une PTH anormalement basse (< 11 pg/ml) est importante dans leur prise en charge thérapeutique.

▫ les maladies granulomateuses comme la sarcoïdose, la tuberculose ou certains lymphomes du fait de la production extra-rénale de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ par les macrophages (9). Ceux-ci produisent, grâce à leur 1α -hydroxylase, des quantités importantes de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ au détriment de la concentration de $25(\text{OH})\text{D}$. Le dosage sérique montre alors un déficit alors qu'on peut atteindre des seuils toxiques de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. Le dosage de la calcémie et de la calciurie est alors préconisé révélant des valeurs élevées. Le dosage de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ est normal dans les hypervitaminoses D liées à un apport exogène excessif de vitamine D. Il est en revanche augmenté dans le cadre des maladies granulomateuses. Ces patients doivent avoir des concentrations de $25(\text{OH})\text{D}$ maintenues entre 20 et 30 ng/ml pour prévenir la carence en vitamine D et l'hyperparathyroïdie secondaire (2).

7.3 Conséquences cliniques

La symptomatologie de l'intoxication à la vitamine D est en relation avec la surcharge en calcium qu'elle provoque. En effet, la saturation en vitamine D entraîne une augmentation de l'absorption intestinale du calcium. La tendance hypercalcémique qui en résulte engendre un freinage parathyroïdien, une hypercalciurie et est dans un premier temps compensée par le rein. Mais, lorsque le rein est dépassé, il existe alors un risque d'hypercalcémie majeure avec des risques rénaux potentiels (2,25). Les signes cliniques de l'hypervitaminose D sont donc ceux de l'hypercalcémie avec hypercalciurie et hyperphosphatémie, à savoir anorexie, soif intense, polyurie, céphalées, ainsi que des troubles digestifs de type nausées, constipation, vomissements. Un grand nombre de ces symptômes sont non spécifiques. Mais si l'intoxication persiste, elle peut entraîner une calcification des tissus mous (calcifications vasculaires, néphrolithiase, néphrocalcinose) voire une insuffisance rénale fonctionnelle puis chronique irréversible et une insuffisance cardiaque (48-49).

7.4 Les traitements de l'intoxication à la vitamine D

Après l'arrêt des apports en vitamine D les effets toxiques peuvent se manifester durant deux mois puisqu'elle a été stockée dans les tissus musculaire et adipeux. On associe un régime pauvre en calcium et on augmente l'élimination de ce calcium par des diurétiques (174). Plus récemment, les bisphosphonates, inhibiteurs de la résorption osseuse, ont représenté une alternative efficace dans le traitement de l'intoxication à la vitamine D. Cependant, lorsque la prise en charge est tardive et qu'il y a atteinte rénale sévère (clairance à la créatinine inférieure à 30 ml/mn), il est contre indiqué d'administrer des bisphosphonates.

On peut utiliser d'autres médicaments pour réduire la concentration sérique de $25(\text{OH})\text{D}$ en affectant le métabolisme et la biodisponibilité de la vitamine D. Il s'agit de la rifampicine, de certains antiépileptiques comme le phénobarbital et de la cholestyramine (2). Ainsi le kétoconazole (antifongique imidazolé) a été utilisé pour corriger des hypercalcémies consécutives à un excès de production de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$.

L'hémodialyse, très efficace sur la diminution de la calcémie, doit être réservée aux hypercalcémies menaçantes, c'est-à-dire associées à des troubles de la conduction ou du rythme cardiaque, à une insuffisance rénale aiguë ou à des manifestations neurologiques graves (jusqu'au coma) (174).

PARTIE II : ANALYSE BIOSTATISTIQUE

Dans ce chapitre nous allons aborder la question de la vitamine D sous un angle plus concret : celui du statut vitaminique D d'une population locale à travers l'étude statistique des relevés de valeurs de 25(OH)D.

1. Matériel et méthode

Nous venons de parcourir dans la première partie le métabolisme, les différents effets de la vitamine D et les conséquences de sa déficience. Il nous est apparu que la prévalence de l'hypovitaminose D concernait la plupart des régions du globe, ce qui nous a amenés à nous interroger sur la situation actuelle concernant la région du Marmandais.

1.1. Justification de l'étude

Les nombreuses publications scientifiques de ces dernières années sur la prévalence de l'hypovitaminose D en France ont amené les médecins généralistes à juger et à éventuellement corriger le statut vitaminique D de leurs patients.

Qu'en est-il au niveau d'une population rurale ou semi-rurale du Sud-Ouest de la France ? Quel est le niveau de prévalence de l'hypovitaminose D dans cette région et est-elle recherchée avec un aussi grand intérêt que dans le reste du pays ?

1.2. Objectifs de l'étude

- Objectif principal de cette étude : décrire le statut vitaminique D d'une population géographiquement ciblée dans le Sud-Ouest de la France, estimer la prévalence de l'insuffisance et de la carence en vitamine D dans la population du Marmandais sur une période de plus de 6 années consécutives. En fait cela revient à réaliser des clichés du statut vitaminique D de cette population au cours des ans. Ces clichés seront comparés à ceux relevés dans d'autres études.

- objectifs secondaires :

- étude de l'influence de quelques facteurs associés au risque d'hypovitaminose D tels que l'âge, le sexe ou l'ensoleillement.
- évaluation de l'augmentation du nombre de dosage de 25(OH)D entre 2010 et 2015. Cette augmentation est-elle similaire à celle enregistrée au niveau national.
- étude en fonction des spécialités médicales des prescripteurs les plus impliqués dans cette demande et des niveaux de vitamine D retrouvés dans chaque branche.
- évaluer l'impact de la décision de CNAM de 2014 sur le nombre de prescriptions de 25(OH)D en population générale et sur les populations à risque, ainsi que sur le statut vitaminique D.

1.3. Schéma d'étude

Il s'agit d'une étude épidémiologique, descriptive, observationnelle du statut en vitamine D de la population du Marmandais suivie médicalement. Le relevé des valeurs de vitamine D a été réalisé entre le 1^{er} avril 2009 et le 31 décembre 2015 mois par mois, soit 81 mois, dans 4 laboratoires d'analyses du Marmandais, soit 324 relevés mensuels comprenant en moyenne une centaine de valeurs de 25(OH)D. La détermination du statut vitaminique D est basée sur le dosage de la 25(OH)D.

1.3.1 population étudiée

Les 4 laboratoires inclus sont situés à Marmande, Casteljaloux, Tonneins et Aiguillon. L'étude porte donc sur les habitants d'une zone géographiquement limitée, dans la partie ouest du Lot et Garonne, celle du Marmandais qui est un des trois Territoires de santé du Lot-et-Garonne d'après la découpe de l'ORS d'Aquitaine (Observatoire Régional de la Santé). C'est la population dans son ensemble, celle suivie médicalement tout au moins qui est représentée ici, population prise dans sa globalité, femmes, hommes, enfants, adultes, personnes âgées, supplémentées ou non, avec ou sans pathologie. Cette population se compose d'habitants de zone urbaine (villes moyennes à petites), semi-urbaine et rurale.

Les relevés des valeurs de vitamine D proviennent des 4 laboratoires suivants représentatifs de la population évaluée :

- le laboratoire 1 est situé à Marmande, ville moyenne située à une latitude de 44°30' N où il existe en tout 3 laboratoires (un hospitalier et deux laboratoires privés d'analyses). La population municipale est de 18 450 habitants. Ce site reçoit les prélèvements d'une partie de la population urbaine et d'une partie des EHPAD locaux mais pas ceux du centre hospitalier intercommunal qui a son propre laboratoire.

- le laboratoire 2 est situé à Casteljaloux, ville de 4600 habitants, de latitude 44°18' N. Ce site est le seul laboratoire de la ville : il traite les prélèvements de la zone urbaine ainsi que les prélèvements de l'hôpital local : gériatrie et soins palliatifs, SSR et une section EHPAD.

- le laboratoire 3 est situé à Tonneins dont la population municipale est de 8900 habitants, de latitude 44°23' N. Ce site est le seul laboratoire de la ville.

- le laboratoire 4 est le site d'Aiguillon dont la population municipale est de 4310 habitants. Sa latitude est de 44°18' N. Il est le seul laboratoire présent dans cette ville.

Tous les laboratoires ont organisé une tournée de ramassage des prélèvements en campagne dans un rayon de 10 km environ autour de leur site, ce qui couvre l'ensemble de la population rurale de la zone du Marmandais. Les laboratoires 2,3 et 4 (qualifiés dans l'étude de site 2, 3 et 4) sont seuls implantés dans leur ville respective et représentent donc pour chacun d'eux l'ensemble de la population locale. Ils sont qualifiés de "sites périphériques" car n'exercent que la phase pré-analytique. Le laboratoire de Marmande (site 1) gère une partie pré-analytique et la phase analytique, le dosage, et est qualifié de "plateau technique".

Ces laboratoires récupèrent les prélèvements des patients qui se rendent au laboratoire (population urbaine et rurale) ainsi que les prélèvements des infirmières libérales déposant au laboratoire. Ils récupèrent aussi tous les jours, lors des tournées de ramassage, les prélèvements faits en maison de retraite, à l'hôpital local ainsi que ceux des médecins libéraux et infirmières libérales installés dans les campagnes limitrophes.

Les critères d'inclusion : sont inclus indifféremment les femmes, les hommes, de tout âge, avec ou sans pathologie, ayant consulté un médecin et dont la consultation a mené à une prescription de dosage de 25(OH)D ou ayant demandé le dosage de leur propre initiative (code HN pour Hors Nomenclature) entre le 1^{er} avril 2009 et le 31 décembre 2015. Les variables incluses dans l'étude sont donc : le site de recueil du prélèvement, le sexe, l'âge, la date de prélèvement, la spécialité du prescripteur et la valeur de la 25(OH)D. Pour un même patient toutes les valeurs enregistrées à des dates différentes seront prises en compte.

Les données sur les suppléments en vitamine D n'étant pas recueillies lors de la demande d'analyse, les valeurs trouvées seront incluses indifféremment dans les tableaux. Il en est de même pour les pathologies associées (thyroïdienne, parathyroïdienne, lymphome, myélome, néoplasies) ou les situations de chirurgie bariatrique (pas toujours connues).

Les critères d'exclusion : âge ou sexe non communiqué ou prescripteur non identifié. Il y a donc très peu de critères d'exclusion hormis le fait que la population hospitalisée n'est pas représentée dans le site de Marmande. Le manque d'information sur la pathologie ou les traitements n'a pas été retenu comme critère d'exclusion.

1.3.2 La population des médecins prescripteurs

La plupart des prescriptions relève de prescripteurs locaux, libéraux ou hospitaliers, de médecine générale ou de spécialistes locaux ou régionaux.

Pour faciliter la lecture des données, les prescripteurs ont été regroupés par spécialités et dotés d'un code :

Médecin généraliste : GENE

Gynécologue : GYNE

Rhumatologue : RHUM

Endocrinologue : ENDO

Néphrologue : NEPHR

Endocrinologue, gastroentérologue ou nutritionniste pour le suivi des by-pass : BY PASS.

Spécialités médicales diverses : gériatre (GERIA), chirurgien (CHIR), cardiologue (CARDIO), angiologue (ANGIO), pneumologue (PNEUMO), gastroentérologue (GASTR), oncologue (ONCO), médecine interne (MED INT), psychiatre (PSY), pédiatre (PEDIA), neurologue (NEURO), dermatologie (DERM).

1.4. Les variables

Dans le cadre de cette étude descriptive nous avons recueilli comme données :

- des variables quantitatives : valeurs de 25(OH)D (notre variable statistique), âge, nombre de dosages effectués par mois ou par année, heures d'ensoleillement. Elles sont exprimées à l'aide de leurs moyennes, écart-types, médianes et quartiles.

- des variables qualitatives : site, sexe du patient, date du prélèvement ou saisonnalité, spécialité du prescripteur. Elles sont exprimées en fréquence et pourcentage.

Pour faciliter la comparaison avec d'autres études réalisées sur le même sujet, l'étendue de certaines variables sera découpée en différentes tranches : par exemple pour l'âge (tranches de 10 ans, ou bien entre 20 et 50 ans ou bien inférieur ou supérieur à 50 ans, 65 ans...) ou pour la durée de l'étude (par mois, semestre ou année).

1.5. Matériel

1.5.1 Outils biostatistiques

Le recueil des données a été réalisé à l'aide du logiciel Hexalis du laboratoire et enregistré sur un logiciel Excel.

La présentation des moyennes et des fréquences a été traitée sous forme de tableaux ou de graphiques. Les graphiques tirés d'autres études ont été présentés dans un cadre ombré pour une meilleure visibilité.

1.5.2 Méthode de dosage de la 25(OH)D

- phase pré-analytique : dans cette étude, nous avons reporté les résultats des valeurs de vitamine D provenant de sérums prélevés ou déposés dans les différents sites ou bien collectés lors des tournées de ramassage. Les délais de transmission, la centrifugation, la décantation éventuelle sur le site périphérique ainsi que le transport à température ambiante ont été respectés.

Le dosage de tous les sérums s'est effectué sur l'automate du site de Marmande : la technique employée est donc la même pour toutes les valeurs recueillies puisque les prélèvements des 4 sites sont analysés sur le seul plateau technique de Marmande, le jour même du prélèvement. La plupart des dosages ont été réalisés sur tube primaire, l'automate gère le profil des demandes d'analyses ainsi aucune manipulation humaine n'intervient. Dans de rares cas, l'analyse a été effectuée sur un sérum de la veille conservé entre 2 et 8°.

- phase analytique : L'analyseur est un Architect I4000 de chez Abbott. Le coffret réactif s'intitule Architect 25 OH vitamine D. La méthode d'analyse est une immunocompétition en phase hétérogène CMIA (chemiluminescent magnetic microparticule immunoassay) dont le principe est décrit dans le chapitre 4.1.2.2. Cette technique dose la 25(OD)D2 et 25(OH)D3 (121).

Limites d'utilisation et interférences : Le dosage Architect 25-OH Vitamin D présente une interférence potentielle $\leq 10\%$ avec l'hémoglobine, la bilirubine, les triglycérides, les protéines, le facteur rhumatoïde, les HAMA (anticorps humains anti-souris) et les globules rouges. L'interférence a été démontrée par une étude réalisée conformément au protocole EP7-A2 du CLSI.

Limites et intervalles de mesures : Reproductibilité : le CV est inférieur à 10 %. Plage de linéarité : de 23,5 à 413,75 nmol/l (9,4 à 165,5 ng/ml). Domaine de mesure : de 20,0 à 400,0 nmol/l. Sensibilité : limite du blanc (LoB) : 4,75 nmol/l; limite de détection (LD) : 7,75 nmol/l et limite de quantification (LQ) : 20 nmol/l. Coefficient de corrélation de 0,94 avec le test de DiaSorin LIAISON 25-OH Vitamin D Total et de 0,90 avec une méthode chromatographique (CPL-SM/SM).

1.5.3 Unités et seuils choisis pour définir les statuts vitaminiques D

L'unité de la concentration en 25(OH)D utilisée dans cette étude est la nanomole/litre (nmol/l).

Le laboratoire a choisi pour la détermination des valeurs seuils de se conformer aux recommandations de 2013 de la SFR (Société Française de Rhumatologie) (175) en indiquant sur les comptes rendus suite aux résultats du dosage formulés sous les deux unités : "selon la Société Française de Rhumatologie : valeurs souhaitables entre 75 et 150 nmol/l (30 à 60 ng/ml); carence pour un taux < 25 nmol/l (< 10 ng/ml)".

Ces deux plages semblent suffisantes : le terme de carence est suffisamment explicite pour le praticien car il représente un risque élevé qu'il convient de corriger dans tous les cas. Les seuils de 75 nmol/l et de 150 nmol/l ont été reconnus par la majorité des experts et cette plage de valeurs a été qualifiée de "valeurs souhaitables" car il ne s'agit pas de valeurs normales calculées à partir d'une population générale, mais de valeurs pour lesquelles on ne retrouve pas d'effets néfastes pour la santé. Entre les deux statuts, l'évaluation diagnostique dépendra du patient considéré dont on ne connaît ni la situation clinique, ni les traitements en cours. Ainsi le praticien n'est pas poussé de par le vocabulaire ou de par le patient à entreprendre une démarche thérapeutique systématique.

Cependant pour avoir la possibilité de comparer les taux d'hypovitaminose D de notre population avec ceux d'autres études on pourra être amené à changer de seuil comme par exemple : statut optimal à partir de 50 nmol/l et insuffisance pour des taux de 25(OH)D situés entre 25 à 50 nmol/l ou encore entre 50 à 75 nmol/l ...

2. Résultats de l'étude et discussion

Cette partie a pour objectif de livrer une description statistique des résultats recueillis, d'en évaluer les données et d'en tirer des observations. Ce travail sera découpé en trois parties s'intéressant tout d'abord à la population, puis au statut vitaminique D de cette population du Marmandais et enfin à l'évolution du nombre des demandes d'observation de ce statut au cours des dernières années.

2.1. Populations patients et prescripteurs

2.1.1 Caractéristiques de la population patient

Durant la période d'avril 2009 à décembre 2015, les valeurs de vitamine D relevées dans les différents sites se répartissent de la façon suivante :

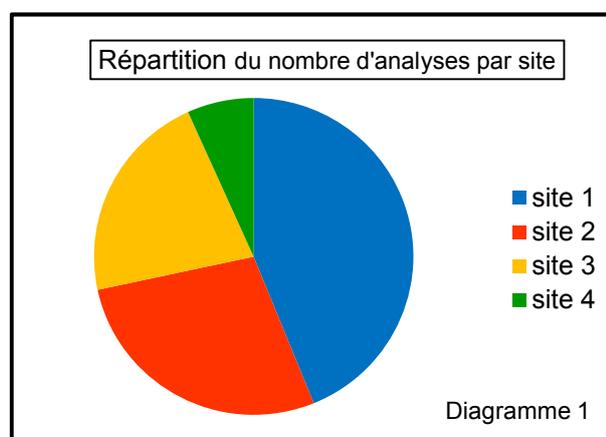
- site 1 Marmande : 17 505 valeurs
- site 2 Casteljaloux : 11 086 valeurs
- site 3 Tonneins : 8 640 valeurs
- site 4 Aiguillon : 2 691 valeurs

Au total on dispose de 39 922 valeurs de 25(OH)D associées aux autres variables (âge, sexe, date de prélèvement, prescripteur)

→ Nombre total d'analyses par site

Le Tableau 1 et Diagramme 1 représentent le poids relatif de chaque laboratoire dans l'ensemble des relevés de données

Tableau 1	Nombre d'analyses	%
site 1	17 505	43,85
site 2	11 086	27,77
site 3	8 640	21,64
site 4	2 691	6,74
tous sites	39 922	100



Le site de Marmande représente à lui seul près de 44 % des analyses.

→ Nombre d'analyses par sexe

Tableau 2	Répartition du nombre d'analyses par sexe et par site			
	site	femme	%	homme
site 1	13 934	79,60	3 571	20,40
site 2	8 040	72,52	3 046	27,48
site 3	6 930	80,21	1 710	19,79
site 4	2 237	83,13	454	16,87
tous sites	31 141	78,00	8 781	22,00

Sur les 39922 données relevées 31141 concernent des femmes et 8781 des hommes.
Tableau 2

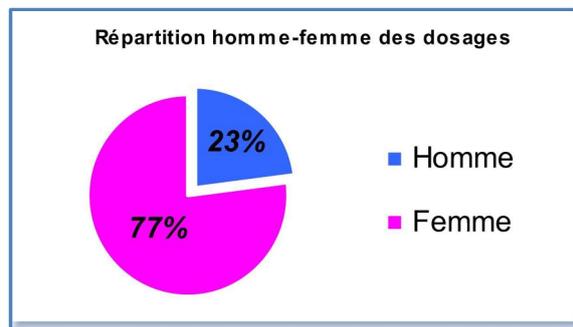
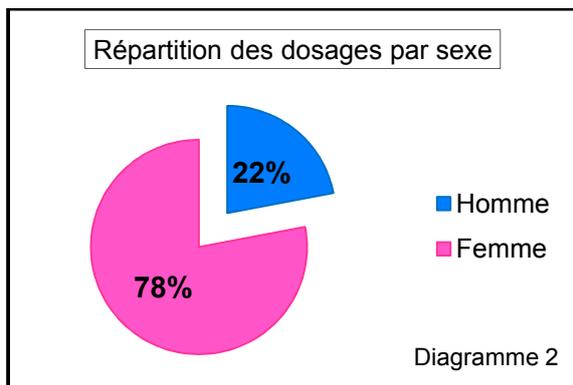


Diagramme 3 : Répartition homme-femme des dosages de vitamine D (CNAMTS 2011)

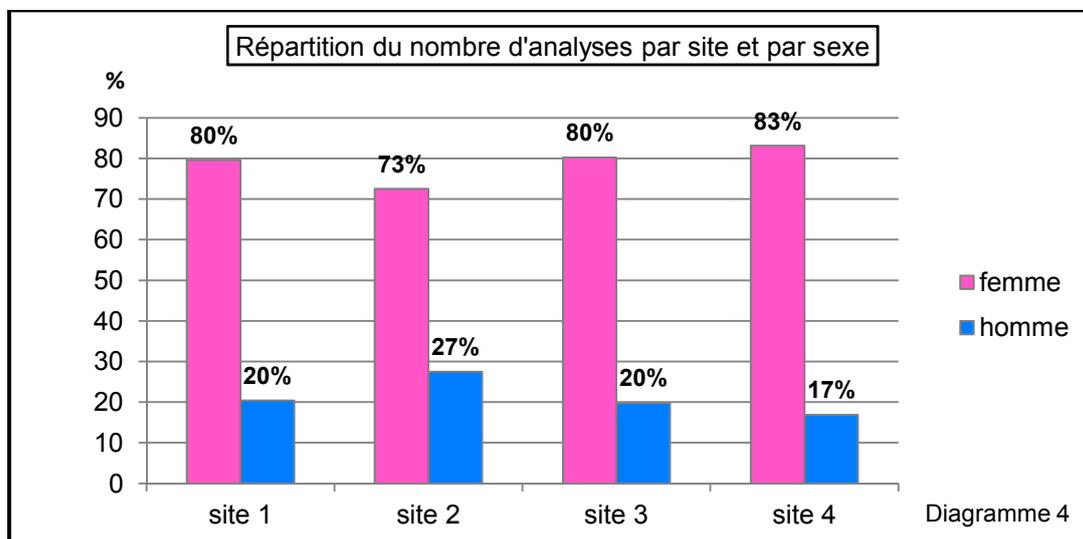
Le nombre de dosages se réparti en 78 % pour les femmes et 22 % pour les hommes tous sites confondus : Diagramme 2.

On peut comparer ces données avec celles issues de la CNAMTS de 2011 au niveau national (52) (Diagramme 3).

Dans les deux études, les femmes sont majoritaires et représentent près de 8 dosages sur 10.

➔ **Nombre de dosages par site et par sexe**

Diagramme 4 : répartition du nombre d'analyses par site et par sexe



➔ **Moyenne d'âge de la population**

Tous les âges sont représentés : de quelques mois (arrondi à 1 an) à 106 ans.

- L'âge moyen de la population, tout sexe confondu est de 63,5 ans et la médiane de 65 ans.
- L'âge moyen des patients de sexe féminin est de 63 ans (de quelques mois à 106 ans) et celui de sexe masculin est de 64 ans (de quelques mois à 101 ans).

Le Tableau 3 répertorie moyenne, écart-type et médiane de l'âge de la population

Tableau 3	Age de la population		
	Tout sexe	Femme	Homme
âge moyen	63,50	63,23	64,43
écart-type	17,33	17,09	18,13
médiane	65	64	67
quartile 25	54	53	56
quartile 75	77	76	78

50 % de notre population est représentée par des patients âgés d'environ 55 à 75 ans (quartile 25 et 75).

Le Tableau 4 reprend l'âge moyen par site et par sexe de notre population.

Tableau 4	Age moyen par site et par sexe		
	Tout sexe	Femme	Homme
âge moyen tous site	63,50	63,23	64,43
âge moyen site 1	62,12	61,83	63,27
âge moyen site 2	66,09	66,09	66,10
âge moyen site 3	63,66	63,55	64,14
âge moyen site 4	61,22	60,76	63,50

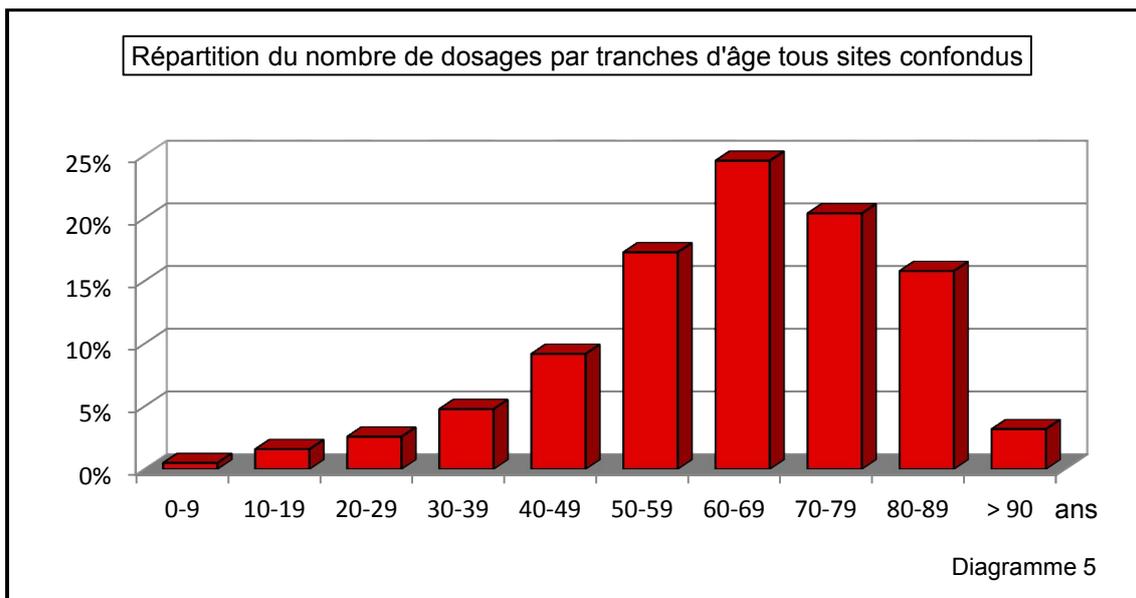
Les moyennes d'âge se situent entre 60 et 66 ans. Seul le site de Casteljaloux présente une égalité stricte entre homme et femme alors que les autres sites rapportent 1 à 2 points d'écart sur les moyennes : les hommes sont plus âgés de 1 à 2 ans par rapport aux femmes. Les 4 sites sont équivalents au niveau de l'âge des populations observées.

→ Nombre d'analyses par tranche d'âge

Nous avons répertorié le nombre de dosages de vitamine D par tranche d'âge de 10 ans pour chaque site et globalement puis calculé le pourcentage par rapport au nombre total d'analyses par site et sur le total des sites. La répartition montre une nette supériorité d'évaluation du statut vitaminique D pour la plage 50-89 ans (78,1%) avec un pic pour les sujets âgés de 60 à 69 ans (24,6%). Tableau 5.

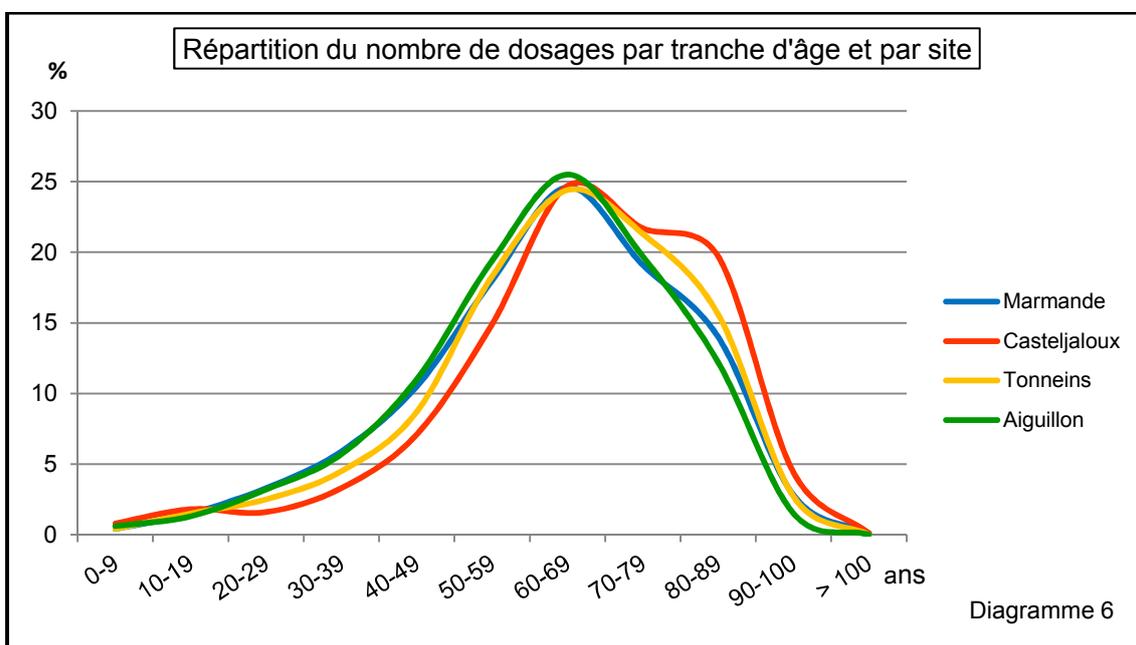
Tableau 5	Répartition du nombre d'analyses par tranche d'âge et par site (%)										
ans	0-9	10-19	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	80-89	90-100	> 100
Marmande	0,4	1,5	3,3	5,9	10,5	18,0	24,6	19,1	14,0	2,8	0,1
Casteljaloux	0,8	1,8	1,6	3,3	7,1	14,9	24,7	21,7	19,7	4,4	0,1
Tonneins	0,4	1,5	2,5	4,5	8,7	18,3	24,4	21,3	15,6	2,7	0,0
Aiguillon	0,6	1,3	3,2	5,7	11,0	19,4	25,5	19,7	12,2	1,5	0,0
Tous sites	0,5%	1,6%	2,6%	4,8%	9,2%	17,3%	24,6%	20,4%	15,8%	3,1%	0,1%

Le Diagramme 5 représente cette répartition par tranche d'âge tous sites confondus.



- répartition des dosages chez les femmes : de moins de 50 ans : 19,3 % ; de plus de 50 ans : 80,7 %
- répartition des dosages chez les hommes : de moins de 50 ans : 16,9 % ; de plus de 50 ans : 83,1 %

Le Diagramme 6 représente cette même proportion de demandes de dosages par tranche d'âge selon les différents sites.



La seule différence notable entre les différents sites se situe au niveau du quartile supérieur de la population de Casteljaloux (79 ans) par rapport aux autres sites (Marmande et Aiguillon : 76 ans; Tonneins : 77 ans). La tranche d'âge 80-89 ans est surreprésentée à Casteljaloux par rapport aux autres sites : 19 % contre 14 % environ dans les autres sites.

➔ **Nombre d'analyses par tranche d'âge et par sexe**

Les Tableau 6 et Diagramme 7 répertorient les pourcentages des demandes selon le sexe pour chacune des tranches d'âge.

Tableau 6	Répartition du nombre d'analyses par tranche d'âge et par sexe (%)										
ans	0-9	10-19	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	80-89	90-100	> 100
Femmes	0,24	0,98	2,22	4,10	7,50	14,24	18,97	15,29	11,91	2,51	0,05
Hommes	0,28	0,59	0,41	0,74	1,70	3,03	5,68	5,06	3,90	0,60	0,01

Le Diagramme 7 peut être comparé à celui édité par la CNAMTS en 2011. Les colonnes femmes et hommes peuvent se comparer. On remarque une légère différence : pour les femmes jusqu'à 59 ans on retrouve un point de moins par rapport aux données nationales alors qu'à partir de 60 ans nous sommes au-dessus de 1 à 2 points. La même tendance se retrouve chez les hommes moins marquée cependant, de 0 à 1 point.

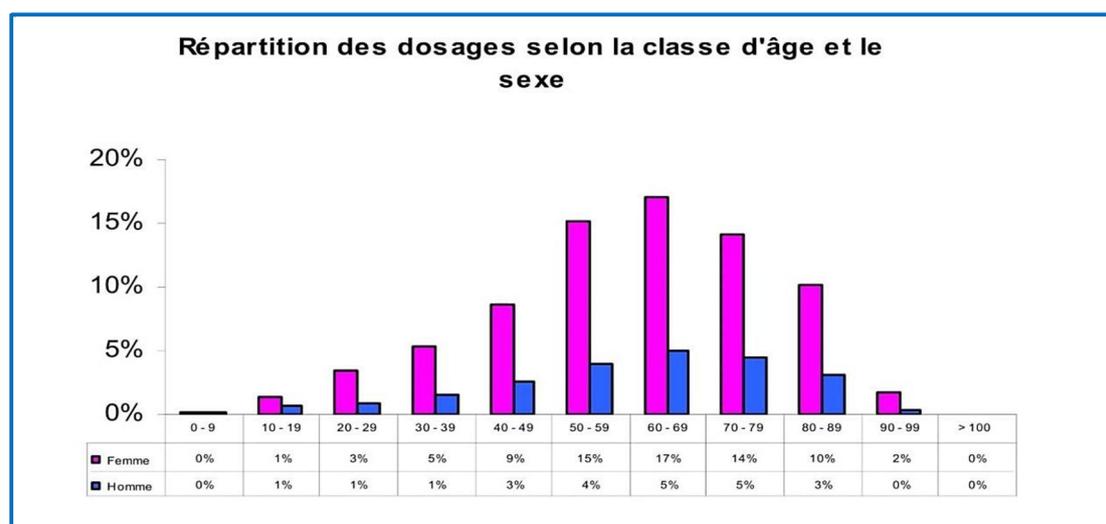
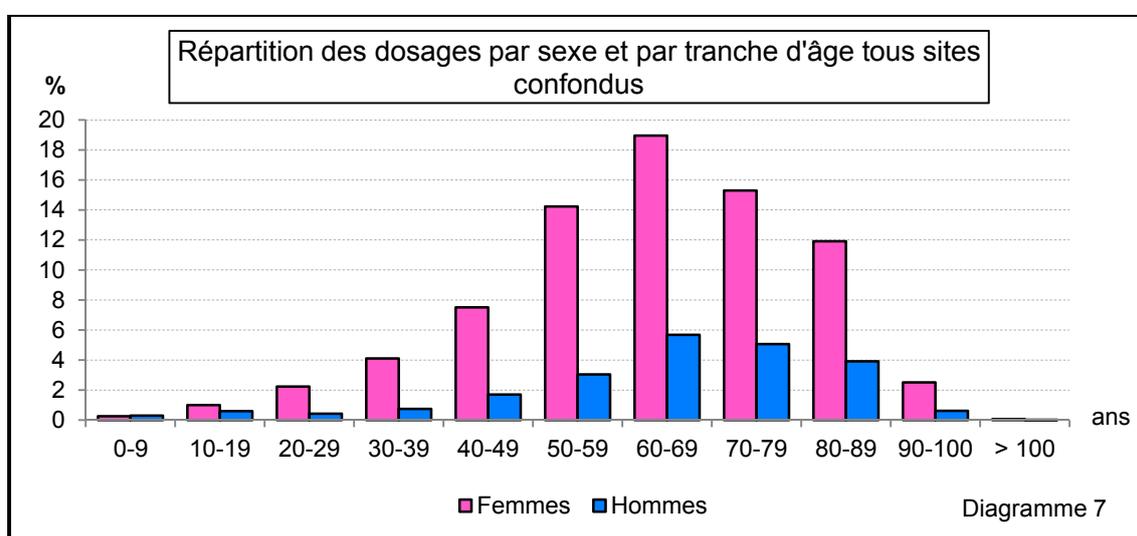
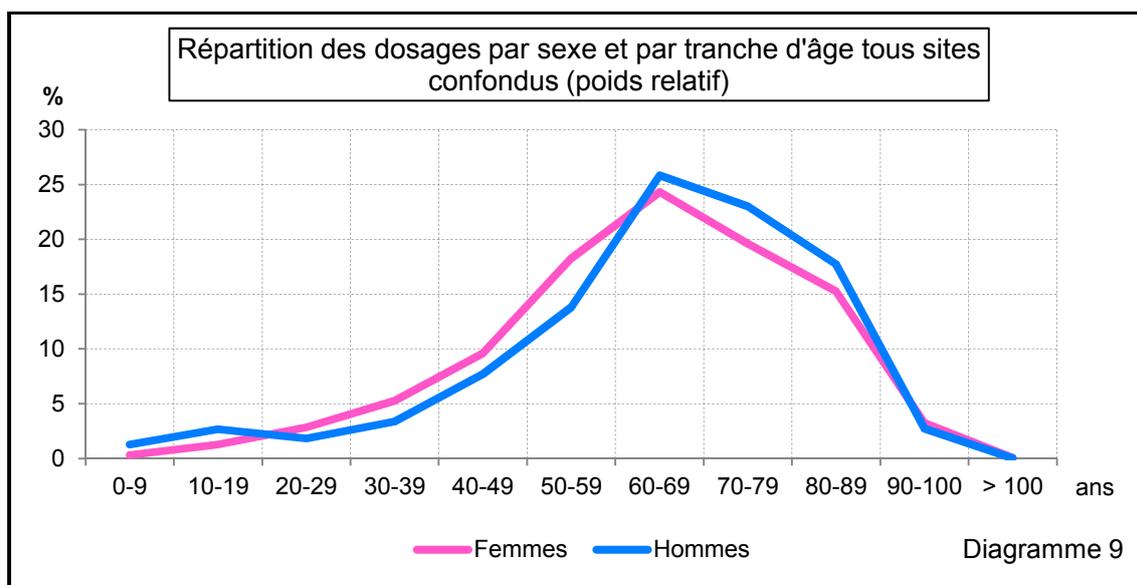


Diagramme 8 : Répartition des dosages selon la classe d'âge et le sexe selon les données de la CNAMTS de 2011 (52).

Une répartition en poids relatif nous permet de mieux explorer les différences homme/femme : Tableau 7.

ans	0-9	10-19	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	80-89	90-100	> 100
Femmes	0,31	1,26	2,85	5,26	9,61	18,25	24,32	19,60	15,27	3,22	0,06
Hommes	1,26	2,66	1,84	3,38	7,72	13,79	25,83	23,02	17,74	2,72	0,02

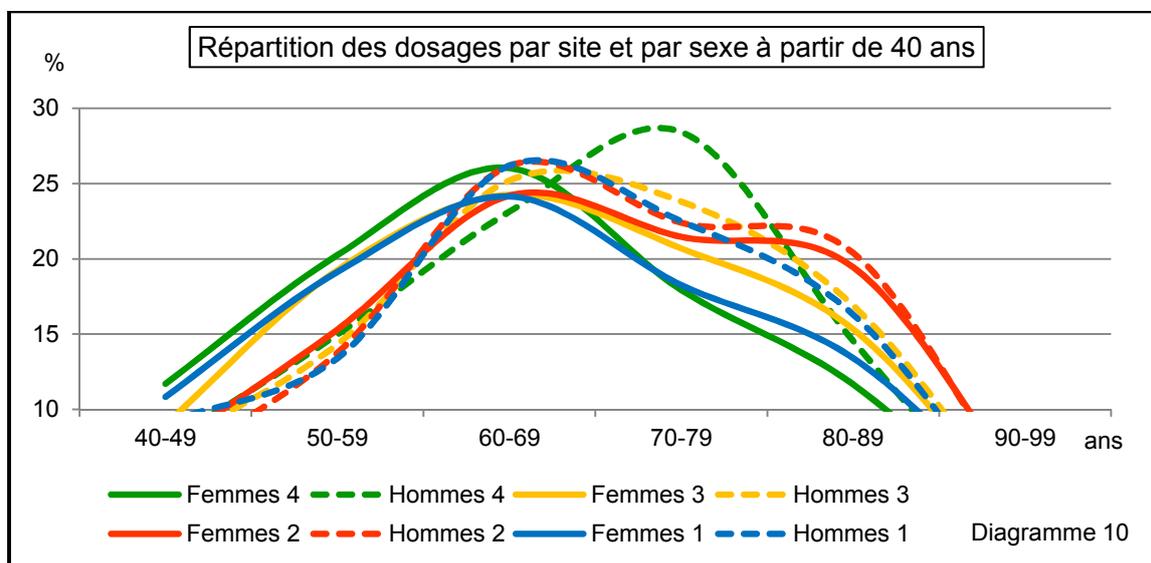


En valeurs relatives les pourcentages s'inversent à partir de 60-69 ans : pour un même nombre d'hommes et de femmes évalués, les hommes de moins de 70 ans sont moins suivis que les femmes et à partir de 70 ans ils sont plus nombreux à bénéficier du dosage.

Tous les sites présentent-ils une inversion des tendances à partir de 60 ans ? Pour répondre à cette question, un zoom a été réalisé sur la plage 40-99 ans selon les sites et par sexe : Tableau 8, Diagramme 10.

ans	40-49	50-59	60-69	70-79	80-89	90-99
Femmes 4	11,71	20,25	26,02	17,93	11,67	1,52
Hommes 4	7,71	14,98	23,13	28,41	14,54	1,32
Femmes 3	9,02	19,25	24,26	20,69	15,32	2,67
Hommes 3	7,54	14,33	25,20	23,80	16,90	2,63
Femmes 2	7,41	15,31	24,19	21,46	19,44	4,65
Hommes 2	6,17	13,76	26,17	22,39	20,39	3,81
Femmes 1	10,84	19,13	24,14	18,26	13,41	2,94
Hommes 1	9,13	13,41	26,18	22,49	16,30	2,02

Tous les sites présentent effectivement cette inversion dans la proportion homme/femme autour de 60-69 ans. Sur le site de Casteljalous les courbes se superposent montrant un intérêt équivalent quel que soit le sexe toute proportion gardée dans le nombre total de demandes homme/femme.

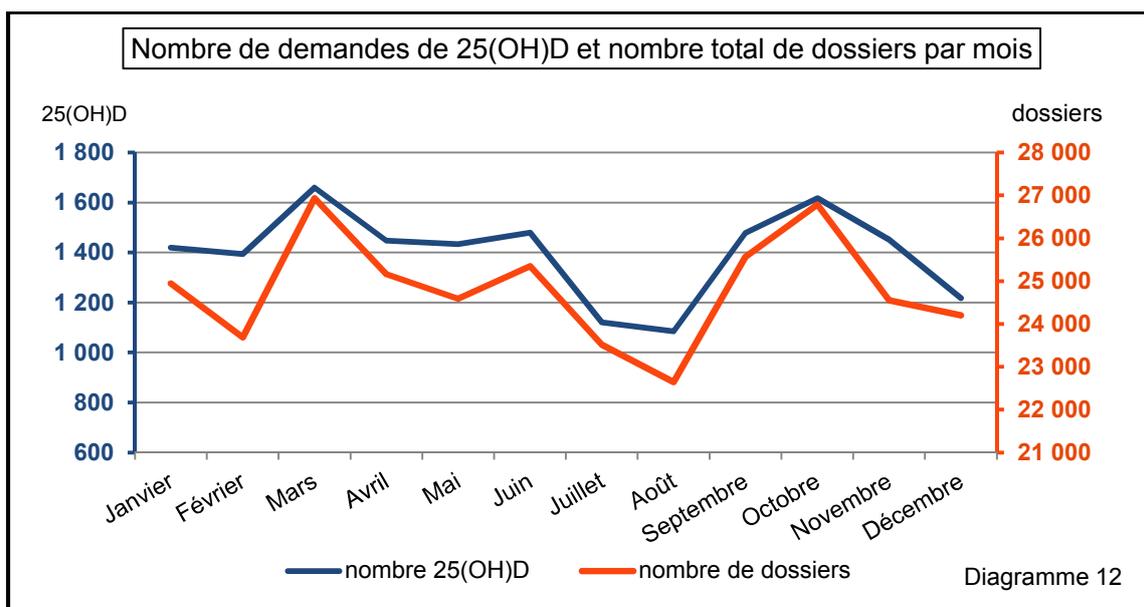
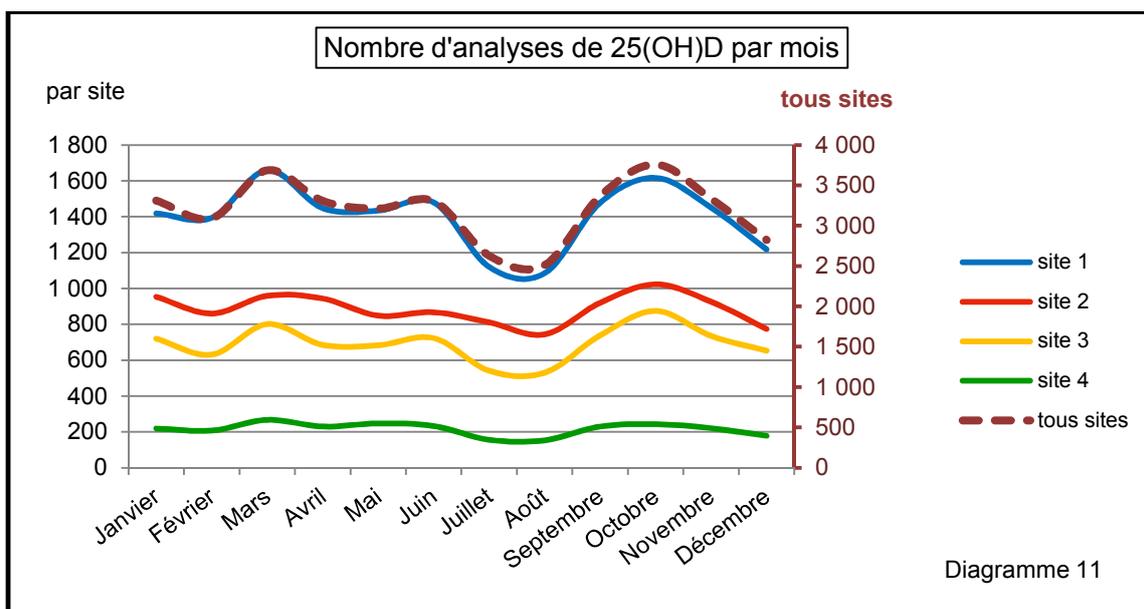


➔ nombre de dosages en fonction des mois de l'année

Tableau 9	Nombre d'analyses de 25(OH)D par mois de 2010 à 2015					Nombre d'analyses par mois de 2010 à 2015 : site 1		
	site 1	site 2	site 3	site 4	tous sites	nombre VD	nombre de dossiers	en poids relatif
Janvier	1 419	953	720	219	3 311	1 419	24 949	5,69%
Février	1 394	860	631	207	3 092	1 394	23 689	5,88%
Mars	1 660	959	801	267	3 687	1 660	26 934	6,16%
Avril	1 448	944	685	230	3 307	1 448	25 166	5,75%
Mai	1 434	848	683	247	3 212	1 434	24 588	5,83%
Juin	1 480	867	723	233	3 303	1 480	25 347	5,84%
Juillet	1 120	811	541	156	2 628	1 120	23 516	4,76%
Août	1 085	744	530	153	2 512	1 085	22 640	4,79%
Septembre	1 478	920	738	230	3 366	1 478	25 568	5,78%
Octobre	1 617	1 023	875	243	3 758	1 617	26 788	6,04%
Novembre	1 451	926	735	221	3 333	1 451	24 553	5,91%
Décembre	1 218	774	653	178	2 823	1 218	24 198	5,03%
						16 804	297 936	5,64%

Le Tableau 9 nous indique le nombre de dosages prescrits par mois durant les six dernières années. L'année 2009 n'a pas été prise en compte car nous n'avons pas les données du 1^{er} trimestre. Dans la deuxième partie du tableau est représenté le poids relatif de la demande de 25(OH)D (VD) par rapport au nombre total de dossiers (comprenant ou non un dosage de vitamine D) réalisé dans le mois sur le site de Marmande qui est le plus représentatif.

Il n'y a pas de grandes variations dans le nombre de dosages demandés en fonction des saisons ou des mois de l'année (Diagramme 11). Les mois de Juillet et Août sont les moins sollicités pour un dosage de 25(OH)D alors que Mars et Octobre sont les mois où le dosage est le plus pratiqué proportionnellement au nombre total de bilans. Le Diagramme 12 permet de visualiser ces variations.



Discussion sur la population "patient" concernée par les dosages

La population du Marmandais visée dans cette étude est majoritairement rurale voire semi-urbaine puisque chaque laboratoire implanté en ville effectue des tournées de ramassage dans les campagnes environnantes. Toute la population suivie médicalement (hors système hospitalier de Marmande) est représentée. La longue période d'observation (6 ans et 9 mois) nous a permis de travailler sur un grand nombre de données permettant ainsi des calculs statistiques fiables et cohérents. D'autre part, c'est une population dans son ensemble qui est représentée, celle suivie médicalement tout au moins, puisqu'il n'y a pas de limite d'âge, ni de sélection sur des critères de pathologie ou de traitement.

- Le laboratoire de Marmande (site 1) recueille à lui seul presque la moitié des dosages de 25(OH)D (44%). La population de la ville de Marmande représente à elle seule la somme des habitants des 3 autres villes, mais il n'est pas le seul laboratoire de cette agglomération (Tableau 1 et Diagramme 1). Le site 2 de Casteljaloux représente 23 % des analyses pour une population urbaine de 4600 habitants alors que pour une population similaire, le site d'Aiguillon (4300 habitants) ne réalise que 7 % des dosages. Il devance même le site 3 de Tonneins (22 % des analyses), ville de 8900 âmes.

- En moyenne sur l'ensemble des sites, 22 % des dosages ont été réalisés pour des hommes et 78 % pour des femmes. Cette moyenne est proche de celle enregistrée au niveau national en 2011 (données CNAMTS 2011 : 23 % pour les hommes et 77 % pour les femmes : Diagramme 3) (52). Les femmes sont donc largement représentées dans la demande de dosage de vitamine D alors qu'elles représentent 52 % de la population (INSEE Lot-et-Garonne). Les 3 sites de Marmande, Tonneins et Aiguillon sont légèrement en dessous de la moyenne nationale concernant la représentation des hommes (20 et 17% : Tableau 2, Diagramme 4). Le site de Casteljaloux par contre montre une bien meilleure représentation de la population masculine avec 27,5 % des demandes. A l'inverse, le site 4 d'Aiguillon présente l'écart homme/femme le plus élevé dans le nombre de demande de dosages (17-83%) possédant ainsi le plus bas pourcentage d'hommes évalués pour le statut vitaminique D. Les villes moyennes comme Marmande et Tonneins se rapprochent davantage de la représentation nationale avec un rapport de 80/20 (diagramme 3 et 4).

Ces données peuvent surprendre dans la mesure où la prévalence de la carence en vitamine D est équivalente chez l'homme et la femme et la prévalence de l'insuffisance est même supérieure chez l'homme (Tableau 25). Cela tend à prouver qu'une large part des demandes qui émanent des généralistes, est sous-tendue par la recherche d'une hypovitaminose D chez la femme de plus de 50 ans à risque d'ostéoporose. D'autre part les femmes consultent davantage le médecin généraliste que les hommes (source INSEE).

- Les prescriptions du dosage de vitamine D s'adressent donc majoritairement aux femmes et la tranche d'âge bénéficiaire de cette demande se situe entre 60 et 80 ans (quartiles 25, 50 et 75 : 54, 65 et 77 ans respectivement) (tableau 3,4 et 5, diagramme 5). La moyenne d'âge de l'ensemble de notre population est de 63 ans avec un seul point d'écart entre homme et femme (Tableau 4). Plus de 80 % des dosages s'adressent à une population de plus de 50 ans (81 % chez les femmes et 83 % chez les hommes). Il existe une nette dominante de la tranche 60-69 ans (25%), puis des tranches 50-59 ans et 70-79 ans (Tableau 5, Diagramme 5), ceci de manière pratiquement équivalente pour chaque site (Tableau 5, Diagramme 6) et pour chaque sexe (Tableaux 6,7,8 Diagrammes 7,9,10). L'originalité du site de Casteljaloux avec ses 19.7 % de demandes chez les 80-89 ans peut être reliée à la présence des centres de gériatrie et EHPAD présents dans la structure de l'hôpital local. Les données de la CNAMTS 2011 révèlent que 46 % de l'ensemble des

dosages sont réalisés pour des femmes âgées de 50 à 79 ans (pour 42 % dans notre étude). Cette comparaison avec la répartition donnée par la CNAMTS 2011 montre que notre région est représentative des données nationales (Diagrammes 7 et 8) (52). On retrouve à partir de 60 ans une différence de 1 à 2 points chez les femmes, peut-être due au fait que la population du Marmandais est plus âgée que la moyenne nationale : 12,8 % de sujets de plus de 75 ans versus 8,7% en France (données ORS 2012) (176).

Concernant la moyenne d'âge pour les hommes et pour les femmes ainsi que la répartition des dosages par tranche d'âge, les 4 sites présentent des données assez semblables.

- Le calcul du poids relatif des demandes homme-femme par tranche d'âge montre des courbes pratiquement similaires (Diagramme 9). La légère différence existant entre les sexes s'inverse entre 60 et 69 ans : c'est à partir de ce point que les hommes bénéficient, proportionnellement au nombre d'analyses, de plus de demandes que les femmes jusqu'à un âge de 90 ans. Le médecin s'intéresserait au statut vitaminique D chez l'homme à un âge plus avancé que chez la femme.

Le Diagramme 10 permet un effet loupe sur la tranche d'âge 40-90 ans : sur tous les sites on observe l'inversion de tendance homme-femme à la tranche d'âge 60-69 ans avec un décalage plus ou moins important. L'écart entre les deux sexes est minimum pour le site de Casteljaloux (les courbes se superposent) et est maximum sur le site d'Aiguillon (courbes décalées) (Diagramme 10).

- La saison influence peu la demande de dosage (Tableau 9, Diagramme 11). Le rapport entre le nombre de dossiers comportant une demande de 25(OH)D et le nombre total de dossiers est de 5,64 % (de 4,76 à 6.16 % selon les mois). Le nombre de demandes 25(OH)D et l'ensemble des demandes comportant d'autres paramètres biologiques non influencés par les saisons montre des fluctuations similaires au cours de l'année (Diagramme 12). Les baisses de demandes de 25(OH)D observées en été (où le niveau de 25(OH)D est le plus élevé par l'ensoleillement maximum : cf Diagramme 18) suivent en fait la baisse d'activité des laboratoires. Une légère augmentation de la demande de 25(OH)D se situerait au mois de Mars (fin hiver) et au mois d'Octobre (fin d'été) : + 0,5 point et une baisse légère aux mois de Juillet-Août avec - 0,8 point. La demande de dosage de la part des prescripteurs n'est pas influencée par la suspicion d'une hypovitaminose D hivernale.

2.1.2. Caractéristiques de la population des prescripteurs

➔ Profil des médecins prescripteurs

Selon les données des ORS 2012 et du RPPS 2013 (Répertoire Partagé des Professionnels de Santé) la densité de médecins généralistes est de 82,3 pour 100 000 habitants dans le Marmandais (densité inférieure à la moyenne nationale) (176,177). Les spécialistes sont en nombre encore plus limité et leur représentation figure dans le Tableau 10

La répartition géographique des médecins généralistes :

- Marmande : 18 + les environs : 15 = 33
- Casteljaloux : 7 + les environs : 3 = 10
- Tonneins : 7 + les environs : 5 = 12
- Aiguillon : 5 + les environs : 3 = 8
- les environs étant les villes alentours desservies par les tournées de ramassage des prélèvements.

Seule la ville de Marmande compte des médecins spécialistes

Secteur	Médecins généralistes	Médecins spécialistes (libéral : 35) (libéral ou salarié : 66) dont :							
		CARDIO	GASTR	ENDO	GYNE	RHUM	PSY	PNEUM	PEDIA
libéral	73	4	1	1	4	1	2	0	1
libéral ou salarié	66	7	2	2	4	1	4	3	3

Tableau 10 : Médecins sur le territoire de proximité du Marmandais (source RPPS 2013)

➔ **Nombre de prescriptions par spécialité médicale**

Les codes utilisés pour nommer les différentes catégories de spécialiste en médecine les plus représentées ont été énoncés dans la partie II. D'autres spécialités ont été relevées durant les 6 années et demi. Toutes sont répertoriées dans le tableau 11.

Tableau 11	Nombre de dosages par prescripteur				
	site 1	site 2	site 3	site 4	tous sites
GENE	13 413	9 648	5 912	1 770	30 743
RHUM	892	366	751	232	2 241
ENDO	1 002	241	687	253	2 183
GYNE	974	340	616	259	2 189
NEPHR	355	106	194	60	715
CHIR	291	138	152	14	595
GASTR	74	77	92	32	275
GERIA	113	42	77	9	241
BY PASS	127	18	17	8	170
MED INT	58	25	45	15	143
ONCO	88	20	13	12	133
ANGIO	33	21	4		58
PNEUMO	4	10	18	10	42
HN	12	5	15	4	36
REEDU	19	8	7		34
NEURO	11	4	8	2	25
CARDIO	9	6	2	2	19
DERM	7	2	5	2	16
allergologie	10	3	2		15
psychiatrie	1	3	6	3	13
ORL			10	2	12
pédiatrie	3	1	2	2	8
urologie	3	1	2		6
sexologie	2				2
SSR			2		2
dentiste	2				2
génétique		1			1
anesthésie			1		1
esthétique	1				1
ophtalmologie	1				1
Total	17 505	11 086	8 640	2 691	39 922
Nombre total dossiers (a)	328 346	194 599	247 825	98 809	869 579
25(OH)D GENE (b)	13 412	9 648	5 912	1 770	30 742
(b/a) %	4,1%	5,0%	2,4%	1,8%	3,5%

Le Tableau 11 présente dans une première partie la fréquence des demandes de 25(OH)D par spécialité sur chaque site et indistinctement. Il comprend en deuxième partie le nombre total de dossiers toutes analyses et le nombre de prescriptions de 25(OH)D faites par les généralistes. La dernière ligne nous donne le pourcentage de prescriptions de 25(OH)D par les généralistes par rapport au nombre total d'ordonnances émises (toute analyse confondue et tout prescripteur confondu).

La répartition des demandes de 25(OH)D par spécialité médicale est représentée dans le Tableau 12. Celui-ci nous indique également l'âge moyen des patients ayant bénéficié d'un dosage. Nous avons retenu pour ce tableau et les prochains les 5 classes principales de prescripteurs à savoir : généraliste : GENE, rhumatologue : RHUM, endocrinologue : ENDO, gynécologue : GYNE et néphrologue : NEPHR.

L'avant dernière colonne de ce tableau permet la comparaison avec les données de la CNAMTS 2012 relevées à partir du Tableau 13. Celui-ci donne la répartition des dosages en fonction des spécialités en 2011 puis en 2012. Ces données sont observées dans le Diagramme 13 : on note un même niveau de demande de la part des généralistes marmandais qu'au niveau national en 2012 (77%).

Dans le Marmandais: les rhumatologues représentent 5,6 % des demandes (versus 5 % et 3 % CNAMTS 2011 et 2012), les gynécologues 5,5 % (versus 4 et 3 %), les endocrinologues 5,5 % (versus 2%) et les néphrologues 1,8 %.

La part des prescriptions émanant de médecins généralistes est plus importante sur le site 2, 87 % contre 70 % en moyenne sur les autres sites.

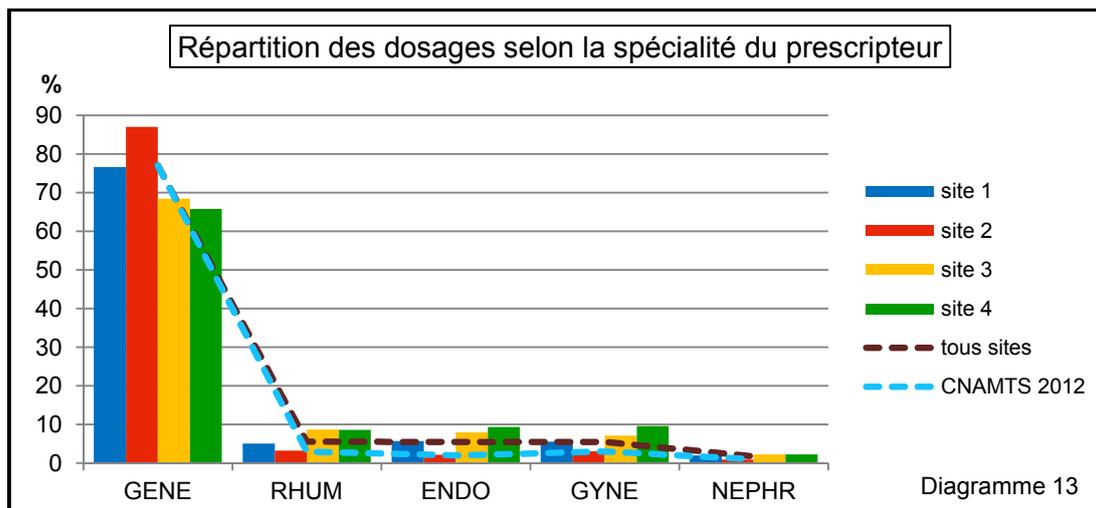
Tableau 12	Répartition des dosages par spécialité prescripteur (%)						âge moyen des patients (ans)
	site 1	site 2	site 3	site 4	tous sites	CNAMTS 2012	
GENE	76,62	87,03	68,43	65,77	77,01	77	64
RHUM	5,10	3,30	8,69	8,62	5,61	3	69
ENDO	5,72	2,17	7,95	9,40	5,47	2	59
GYNE	5,56	3,07	7,13	9,62	5,48	3	55
NEPHR	2,03	0,96	2,25	2,23	1,79	1	61

Tableau 7. Prescriptions des dosages de vitamine D en 2011 et 2012 par professions (dosages réalisés dans des laboratoires d'analyses de biologie médicale du secteur privé) (données CNAMTS)

Prescripteurs	2011		2012	
	Nombre d'actes	%	Nombre d'actes	%
Toutes spécialités confondues	6 280 771	100	8 061 115	100
MEDECINE GENERALE	4 671 555	74	6 183 825	77
ETABLISSEMENT	632 927	10	797 378	10
RHUMATOLOGIE	288 677	5	275 625	3
ENDOCRINOLOGIE ET METABOLISMES	147 890	2	175 214	2
GYNECOLOGIE MEDICALE	135 416	2	131 692	2
GYNECOLOGIE OBSTETRIQUE	98 871	2	105 416	1
NEPHROLOGIE	82 958	1	95 724	1
MEDECINE INTERNE	38 541	1	43 410	1

(Source tableau de bord de la biologie – données CNAMTS)

Tableau 13 : Répartition des dosages par spécialité prescripteur selon les données de la CNAMTS 2011 et 2012.



Discussion sur la population "prescripteurs" du dosage

Outre les différentes catégories de prescripteurs : médecine générale, rhumatologie, endocrinologie, néphrologie, gynécologie pour lesquelles l'intérêt du dosage de la 25(OH)D n'est plus à démontrer, on s'est intéressé à identifier d'autres spécialités comme :

- les gériatres chez lesquels on retrouve les consultations "mémoire" se pratiquant dans le cadre du centre hospitalier intercommunal de Marmande-Tonneins le plus souvent.
- les chirurgiens : le plus souvent il s'agit de prescriptions provenant du pôle de chirurgie orthopédique d'une clinique de Marmande spécialisée dans les interventions de la hanche ou du genou et pour qui le diagnostic d'ostéoporose ou d'ostéomalacie peut avoir son importance.
- les prescriptions codées BY-PASS sont dévolues aux bilans pré ou post-opératoires des chirurgies bariatriques. Le suivi post-intervention (by-pass, sleeve) prévoit, par la HAS, le dosage de vitamine D. Celui-ci peut être demandé par un gastroentérologue, un endocrinologue ou un nutritionniste.
- les prescriptions codées ONCO sont attribuées à des patients suivis pour leur chimiothérapie sur les pôles d'Agen (70 km) ou Bordeaux (90 km).

Pour les spécialités les plus rencontrées, en dehors des généralistes, il faut préciser que dans cette étude :

- les prescriptions des gynécologues ne sont pas différenciées en fonction du patient : il peut s'agir de femmes enceintes, de femmes sous contraceptifs, de femmes plus âgées ménopausées.
- les prescriptions des néphrologues concernent les patients en dialyse dans les antennes de Marmande, Tonneins ou de Casteljaloux ou les patients en insuffisance rénale non dialysés, tous suivis par des néphrologues du pôle bordelais le plus souvent (absence de néphrologues dans le Marmandais).

Dans notre région le généraliste prescrit 77 % des demandes de 25(OH)D (Tableau 12). Cette part est plus importante que celle relevée par la CNAM en 2011 au niveau national (74%) mais est équivalente pour l'année 2012 (Tableau 12, Diagramme 13).

On retrouve des chiffres assez disparates selon les sites dans la répartition du nombre de demandes en fonction de la spécialité du médecin prescripteur. Ainsi, sur Casteljaloux, 87 % des prescriptions sont réalisées par des généralistes et seulement 1 % par des néphrologues alors qu'un site de dialyse est implanté dans cette ville. La part "généraliste"

est inférieure à la moyenne (de 10 points) sur les sites de Tonneins et d'Aiguillon, ce qui majore la part "rhumatologues, endocrinologues et gynécologues" sur ces sites. Les dosages prescrits par les rhumatologues touchent une population de 69 ans de moyenne d'âge, la population suivie par les généralistes a une moyenne d'âge de 64 ans et celle des gynécologues 55 ans (Tableau 12).

Bien que sous-représentée par le nombre de médecins généralistes, notre région présente pourtant un taux identique de demandes de 25(OH)D par rapport au niveau national (77%). On compte 82.3 généralistes pour 100 000 habitants dans le Marmandais contre 97 au niveau national (176,177).

La demande de 25(OH)D est donc prescrite à plus de 70 % par des généralistes, chez des femmes majoritairement (78 %) après la ménopause (80 % après 50 ans). Cette répartition est due à l'intérêt du diagnostic de l'hypovitaminose D et de ses conséquences sur les risques osseux. En effet à partir de 60 ans chez la femme l'ostéoporose est aggravée par une insuffisance en vitamine D et avec la diminution de la force musculaire et des performances cognitives, le risque de chute augmente entraînant un risque de fracture. La vitamine D joue un rôle sur chacun de ses facteurs. Il est donc important de contrôler à partir de 50 ans le statut vitaminique D et de compléter si nécessaire. Dans les petites villes, c'est le généraliste qui prend en charge les problèmes d'ostéoporose chez ces femmes (pour compenser le manque de spécialistes comme les gynécologues ou rhumatologues).

Les 4 sites donnent des valeurs similaires concernant la répartition du nombre d'analyses par mois, la répartition des patients par tranche d'âge et du pourcentage de prescriptions par spécialité. Ce sont donc les généralistes qui prennent en charge le suivi de cette population. Selon la politique de dépistage ou de soins de chacun d'eux, on notera des différences dans la répartition des demandes : Tableau 11 dernière ligne : de 1,8 % à Aiguillon à 5,0 % à Casteljaloux. Ceci est dû à la faible représentation des généralistes dans le secteur du Marmandais. Ainsi, le site de Casteljaloux se distingue des autres sites par : un nombre de dosages de 25(OH)D plus élevé par rapport à la population globale, par un rapport hommes/femmes différent (27 % versus 20 %), par une moyenne d'âge un peu plus élevée (66 ans versus 63 ans) mais strictement équivalente entre homme et femme (0 point d'écart versus 1 à 2 points), par une demande plus importante dans la tranche 80 et 89 ans (20 % versus 14%) (Tableau 5, Diagramme 6). Or, les villes de Casteljaloux et Tonneins comptent environ 7 médecins généralistes chacune (pour un nombre d'habitants allant du simple au double) et Aiguillon en compte 5. Cette pénurie de médecins justifie les disparités observées entre les sites et chaque prescripteur aura donc une influence significative sur les proportions observées.

2.2. Statut vitaminique D de notre population

2.2.1 Taux sérique moyen de vitamine D

La moyenne des valeurs en vitamine D de la population tous sites confondus est de 66,59 nmol/l soit 26,64 ng/ml. La valeur la plus basse est de 1 nmol/l et la plus élevée de 642 nmol/l (257 ng/ml) ; médiane : 62 nmol/l (24,8 ng/ml).

2.2.1.1 Moyenne en vitamine D selon le sexe et le site

Le Tableau 14 regroupe les valeurs représentatives statistiques du taux de 25(OH)D

- moyenne chez les femmes : 67,65 nmol/l (27,06 ng/ml) ; médiane : 64 nmol/l ; valeur minimale : 1 nmol/l ; maximale : 564 nmol/l

- moyenne chez les hommes: 62,85 nmol/l (25,14 ng/ml) ; médiane : 59 nmol/l ; valeur

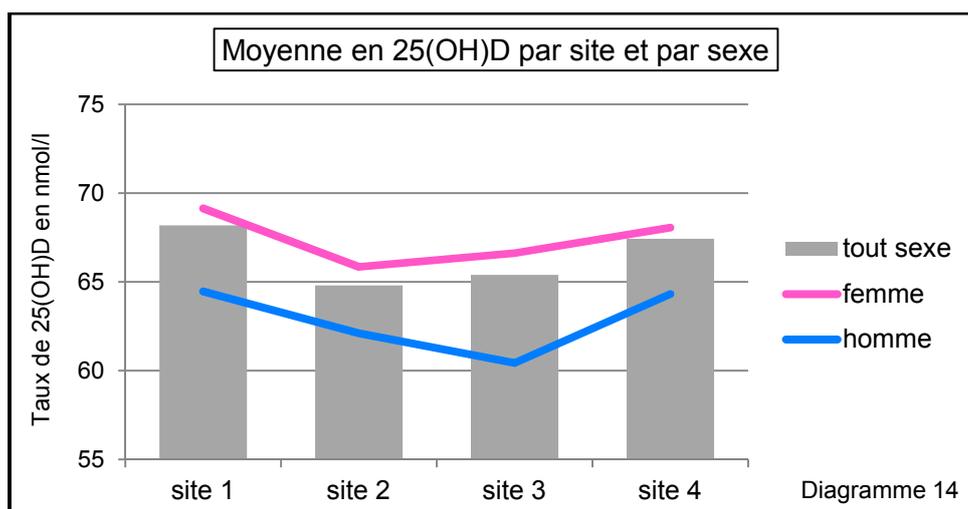
minimale : 6 nmol/l ; maximale : 642 nmol/l.
 - médiane : 62 nmol/l

Les femmes ont des valeurs légèrement plus élevées que les hommes avec une valeur moyenne de 67,65 nmol/l pour 62,85 nmol/l pour les hommes, ce qui représente 5 points d'écart entre les deux moyennes.

Les Tableau 15 et Diagramme 14 reprennent les moyennes en 25(OH)D selon le site : les moyennes les plus basses, se trouvent sur les sites de Casteljaloux et Tonneins pour les deux sexes. Le site 2 de Casteljaloux a la moyenne la plus basse (64,81 nmol/l) et un écart de 4 points avec celui du site 1 de Marmande (68,18)

Tableau 14	Moyenne 25(OH)D par sexe		
nmol/l	tout sexe	femme	homme
Moyenne	66,59	67,65	62,85
Ecart type	32,39	32,86	30,39
Quartile 25	44	45	42
Médiane	62	64	59
Quartile 75	83	84	77

Tableau 15	Moyenne 25(OH)D par site		
nmol/l	tout sexe	femme	homme
site 1	68,18	69,14	64,46
site 2	64,81	65,84	62,11
site 3	65,40	66,62	60,44
site 4	67,42	68,06	64,32

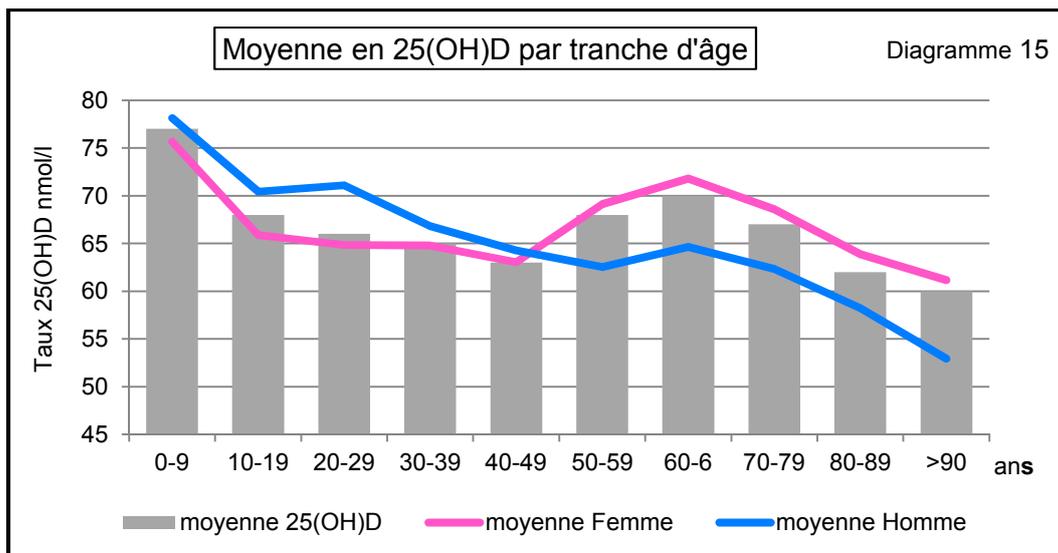


Les valeurs calculées à partir de la population féminine miment celles de la population totale puisque les femmes représentent près de 80 % des analyses. Pour plus de lisibilité nous représenteront dans les graphiques les valeurs de la population globale en colonnes grisées.

2.2.1.2 Moyenne en vitamine D selon l'âge et le sexe

Dans le Tableau 16 et Diagramme 15 nous avons reporté les moyennes en 25(OH)D par tranches d'âge de 10 ans, tout sexe confondu et par sexe.

Tableau 16	Moyenne des valeurs en 25(OH)D par tranche d'âge									
âge	0-9	10-19	20-29	30-39	40-49	50-59	60-6	70-79	80-89	>90
moyenne 25(OH)D	77	68	66	65	63	68	70	67	62	60
moyenne Femme	75,64	65,89	64,83	64,78	63,05	69,11	71,78	68,60	63,88	61,17
moyenne Homme	78,10	70,43	71,09	66,83	64,26	62,53	64,65	62,34	58,23	52,94



On relève de grandes variations en fonctions de l'âge avec des valeurs élevées chez les enfants de moins de 10 ans. Puis les valeurs diminuent progressivement avec l'âge. Un pic se retrouve cependant chez les hommes dans la tranche d'âge 60-69 ans, plus espacé pour les femmes où il recouvre la plage d'âge 50-80 ans. Avant 50 ans les femmes ont des valeurs inférieures aux hommes.

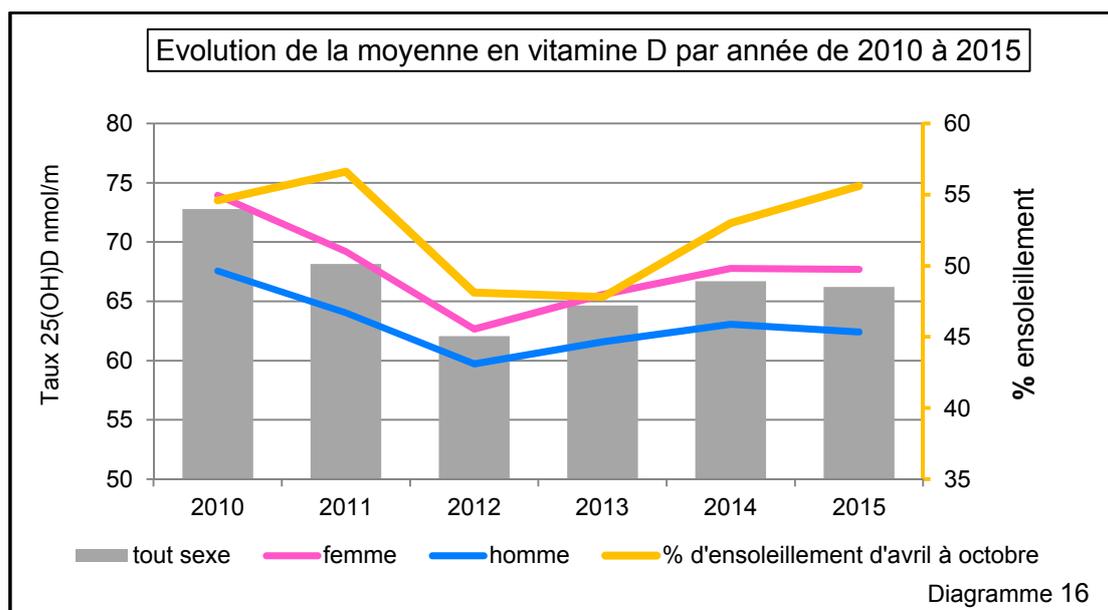
2.2.1.3 Moyenne vitamine D en fonction de la date et de l'ensoleillement.

Nous allons nous intéresser dans ce paragraphe à l'évolution des moyennes de vitamine D tout au long de l'année. Nous avons relevé en parallèle les heures d'ensoleillement ainsi que le pourcentage d'ensoleillement pour chaque mois, d'avril 2009 jusqu'à décembre 2015. La durée et le pourcentage d'ensoleillement représentent (selon l'OMM : Organisation Météorologique Mondiale) la période durant laquelle le rayonnement solaire direct dépasse le seuil de 120 W/m² et le pourcentage d'heures du jour où cette puissance est dépassée. Ces valeurs proviennent de la station météo d'Agen la Garenne la plus proche de notre région d'étude. Ceci nous a permis une étude plus détaillée par mois, par saison, par semestre ou par année.

→ par année

Les moyennes de vitamine D ont été calculées année par année depuis 2010. La fluctuation des moyennes annuelles a été corrélée avec le pourcentage d'ensoleillement de l'année à compter des mois d'avril à octobre : Tableau 17 et Diagramme 16.

Tableau 17	Moyenne en 25(OH)D par année (avril-octobre)					
	2010	2011	2012	2013	2014	2015
tout sexe	72,78	68,14	62,06	64,65	66,69	66,21
femme	73,95	69,19	62,65	65,56	67,77	67,68
homme	67,55	64,04	59,73	61,57	63,06	62,42
% d'ensoleillement d'avril à octobre	54,6	56,6	48,1	47,8	53,0	55,6



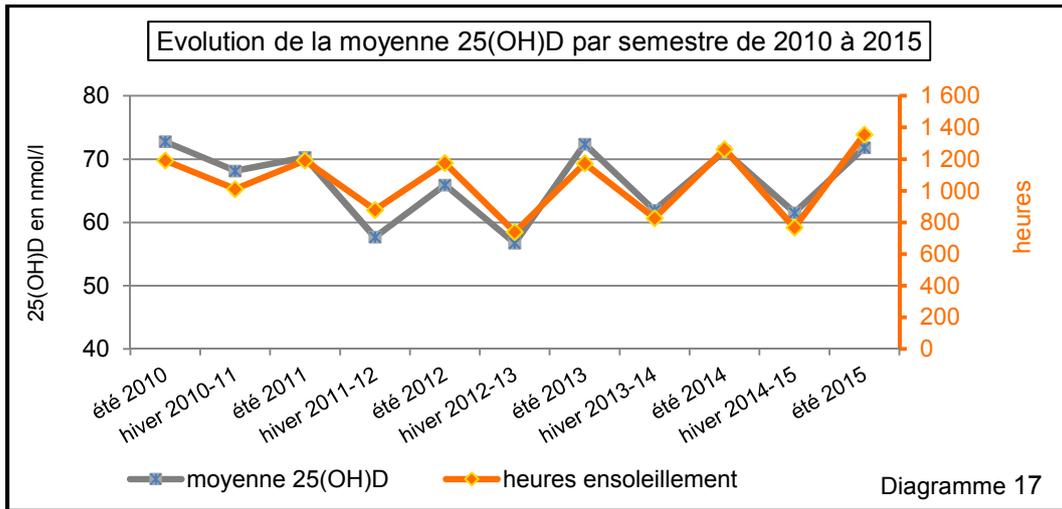
Les années 2012 et 2013 ont profité d'un pourcentage d'ensoleillement relativement bas entre avril et octobre. Les moyennes en vitamine D de ces deux années sont également les plus basses recueillies sur les six années consécutives.

➔ **par semestre et par mois**

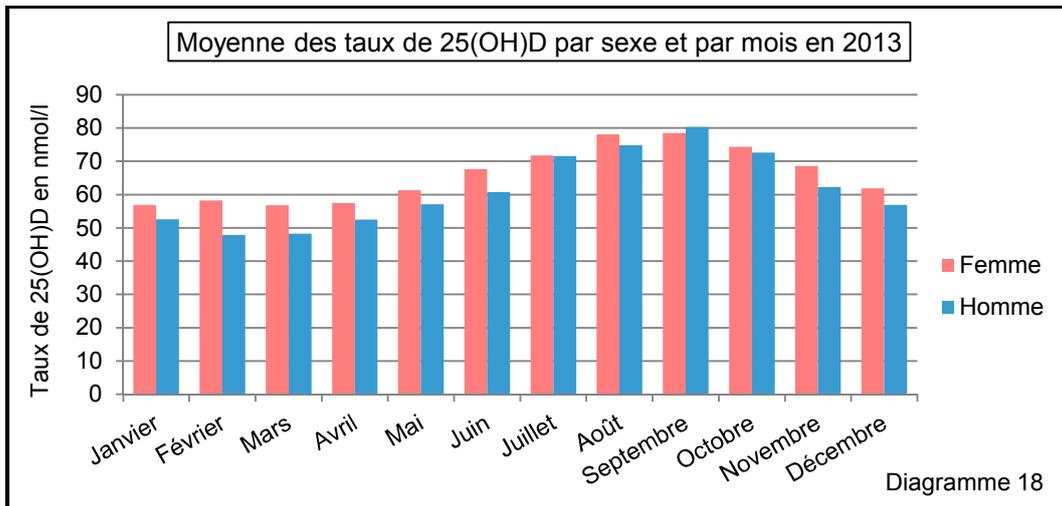
De même, nous avons reporté dans le Tableau 18 les moyennes en 25(OH)D et les heures d'ensoleillement par semestre. Ces semestres sont définis comme suit : pour le semestre "été", la période allant des mois de juin à novembre (mois durant lesquels le nombre d'heures d'ensoleillement est important dans notre région) et pour le semestre désigné "hiver" la période de l'année allant de décembre à mai (Diagramme 17).

Tableau 18	Moyenne en 25(OH)D par semestre de 2010 à 2015	
	moyenne 25(OH)D	heures ensoleillement
été 2010	72,77	1192
hiver 2010-11	68,16	1011
été 2011	70,29	1192
hiver 2011-12	57,69	880
été 2012	65,93	1175
hiver 2012-13	56,73	740
été 2013	72,38	1173
hiver 2013-14	61,92	827
été 2014	71,25	1263
hiver 2014-15	61,55	768
été 2015	71,80	1356

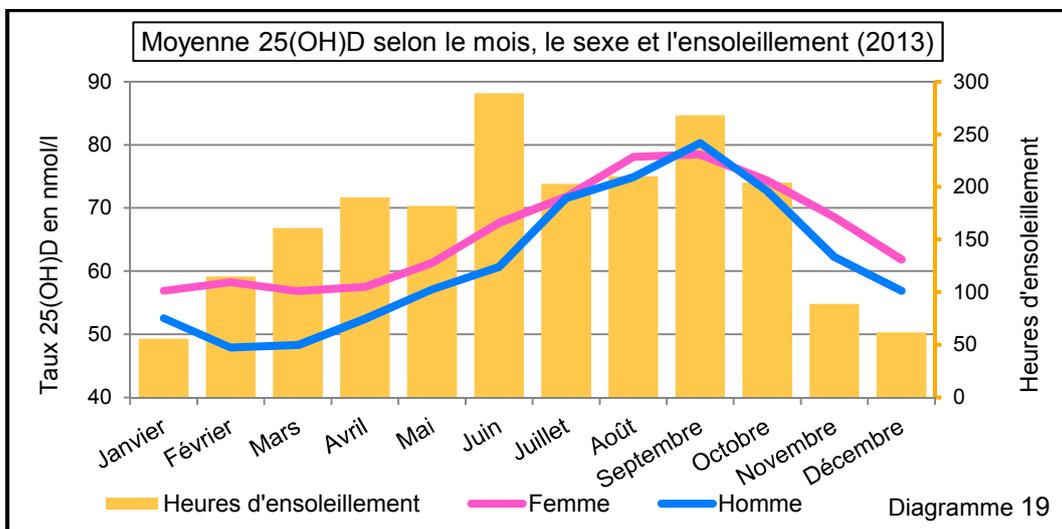
Tableau 19	Moyenne en 25(OH)D par mois, par sexe et ensoleillement (2013)		
	Femme	Homme	Heures soleil
Janvier	56,91	52,55	56
Février	58,24	47,91	115
Mars	56,84	48,28	161
Avril	57,50	52,45	190
Mai	61,28	57,10	182
Juin	67,64	60,70	289
Juillet	71,75	71,54	203
Août	78,05	74,87	210
Septembre	78,44	80,26	268
Octobre	74,33	72,63	204
Novembre	68,58	62,22	89
Décembre	61,86	56,91	62



Le Tableau 19 nous donne les moyennes femmes et hommes de la 25(OH)D par mois de l'année 2013 ainsi que le nombre d'heures d'ensoleillement. C'est une année peu ensoleillée mais elle a pour nous l'avantage de fournir par mois un nombre important de valeurs (Diagramme 18 et 19).



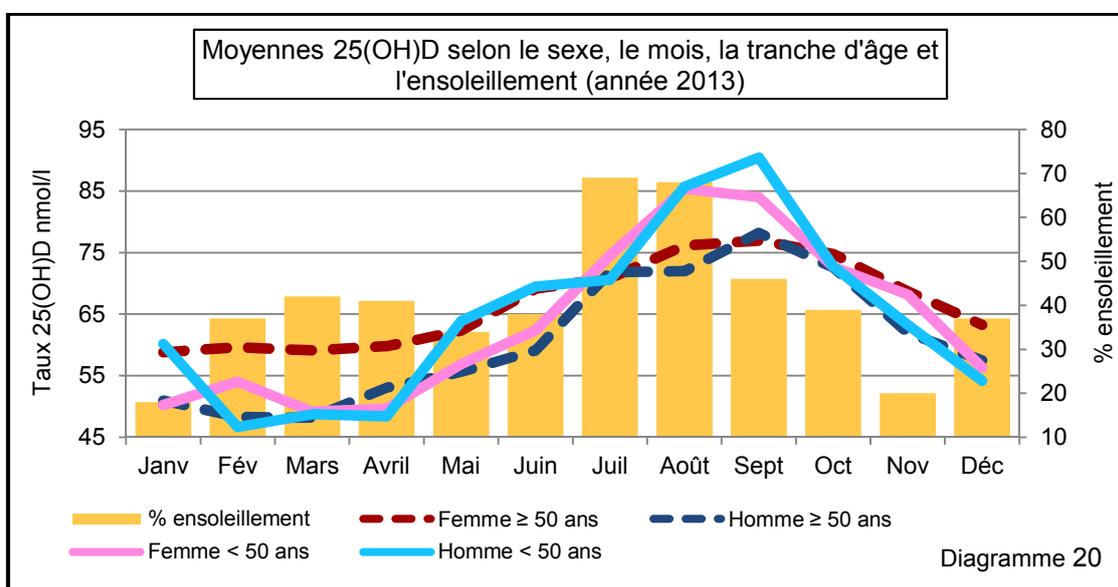
Le Diagramme 19 reprend les mêmes données que le Diagramme 18 avec les heures d'ensoleillement représentées en colonnes.



→ par tranche d'âge

Nous avons vu que les courbes de valeurs des moyennes homme/femme s'inversaient à partir de 50 ans. Nous avons donc divisé en deux tranches d'âge ces deux populations. Les Tableau 20 et Diagramme 20 répertorient les moyennes des hommes et des femmes de moins et de plus de 50 ans pour tous les mois de l'année 2013 avec le pourcentage d'ensoleillement du mois.

Tableau 20		Moyennes 25(OH)D selon le sexe, le mois, la tranche d'âge et l'ensoleillement en 2013											
2013	Janv	Fév	Mars	Avril	Mai	Juin	Juil	Août	Sept	Oct	Nov	Déc	
% ensoleillement	18	37	42	41	34	38	69	68	46	39	20	37	
Femme ≥ 50 ans	58,79	59,62	59,13	59,81	62,35	69,14	70,84	76,12	76,94	74,79	68,70	63,24	
Homme ≥ 50 ans	50,95	48,31	48,19	53,06	55,64	59,12	71,80	71,99	78,22	72,61	61,99	57,53	
Femme < 50 ans	50,24	54,05	49,15	49,60	56,90	62,37	74,50	85,34	84,02	72,70	68,18	56,31	
Homme < 50 ans	60,16	46,66	48,74	48,39	63,88	69,48	70,57	85,74	90,43	72,73	63,24	54,21	



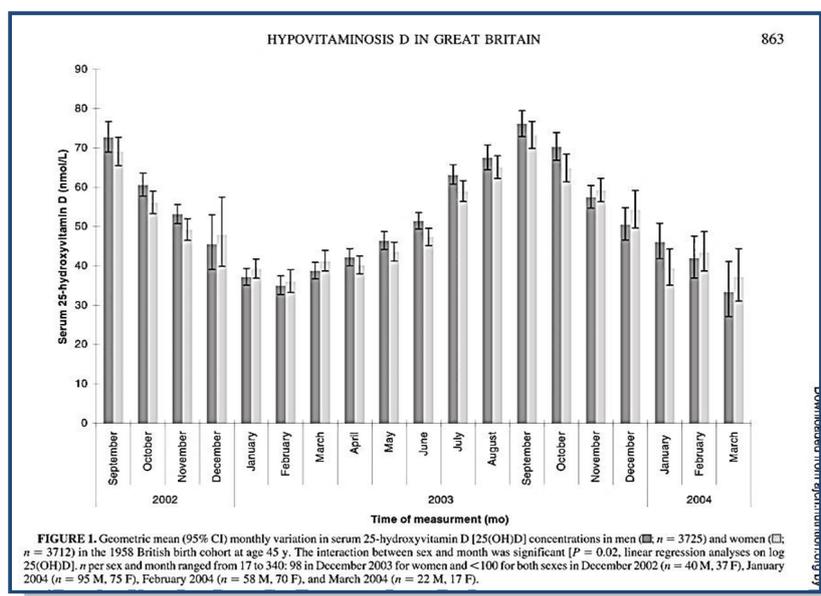
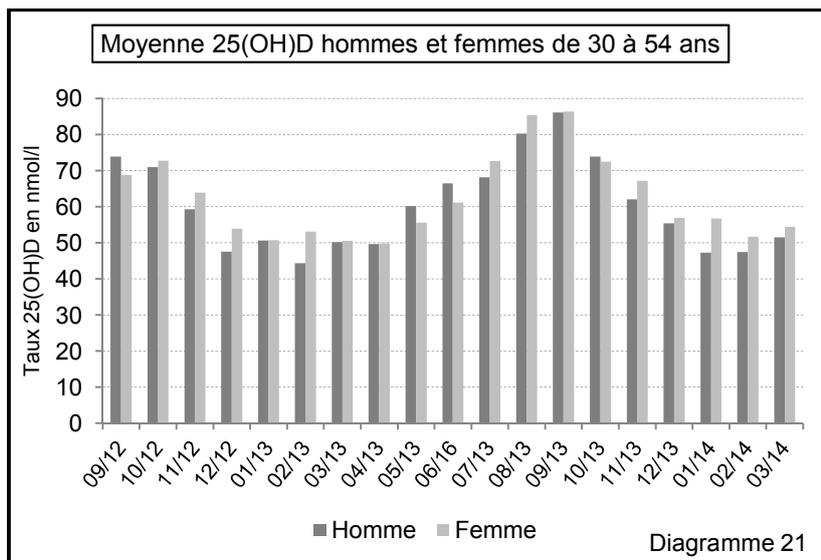
Pendant les mois d'été (de juillet à octobre), les courbes femme et homme de la même tranche d'âge se superposent. Des différences plus significatives apparaissent durant les mois d'hiver. La courbe la plus stable est celles des femmes âgées de plus de 50 ans. Les hommes quel que soit l'âge ont des valeurs très basses durant l'hiver.

→ comparaison avec l'étude d'Hyppönen

Hyppönen a consacré une étude portant sur la prévalence de l'hypovitaminose D chez 7437 sujets âgés de 45 ans vivant dans différentes régions de grande Bretagne entre septembre 2002 et mars 2004 (178). Pour la comparaison avec notre région du Marmandais, nous avons sélectionné les sujets âgés de 30 à 54 ans et calculé la moyenne des concentrations en 25(OH)D de septembre 2012 à mars 2014 (Tableau 21).

Nous retrouvons les mêmes variations des moyennes de 25(OH)D en fonction des mois de l'année donnant des histogrammes superposables. Ces variations de moyennes sont plus atténuées dans notre région.

Tableau 21	Moyenne 25(OH)D hommes et femmes de 30 à 54 ans	
	mois	Homme
09/12	73,89	68,77
10/12	71,00	72,75
11/12	59,29	63,89
12/12	47,58	53,89
01/13	50,68	50,74
02/13	44,39	53,12
03/13	50,19	50,54
04/13	49,64	49,83
05/13	60,22	55,60
06/16	66,48	61,19
07/13	68,16	72,66
08/13	80,26	85,39
09/13	86,14	86,37
10/13	73,88	72,46
11/13	62,08	67,21
12/13	55,38	56,88
01/14	47,28	56,79
02/14	47,42	51,74
03/14	51,53	54,48

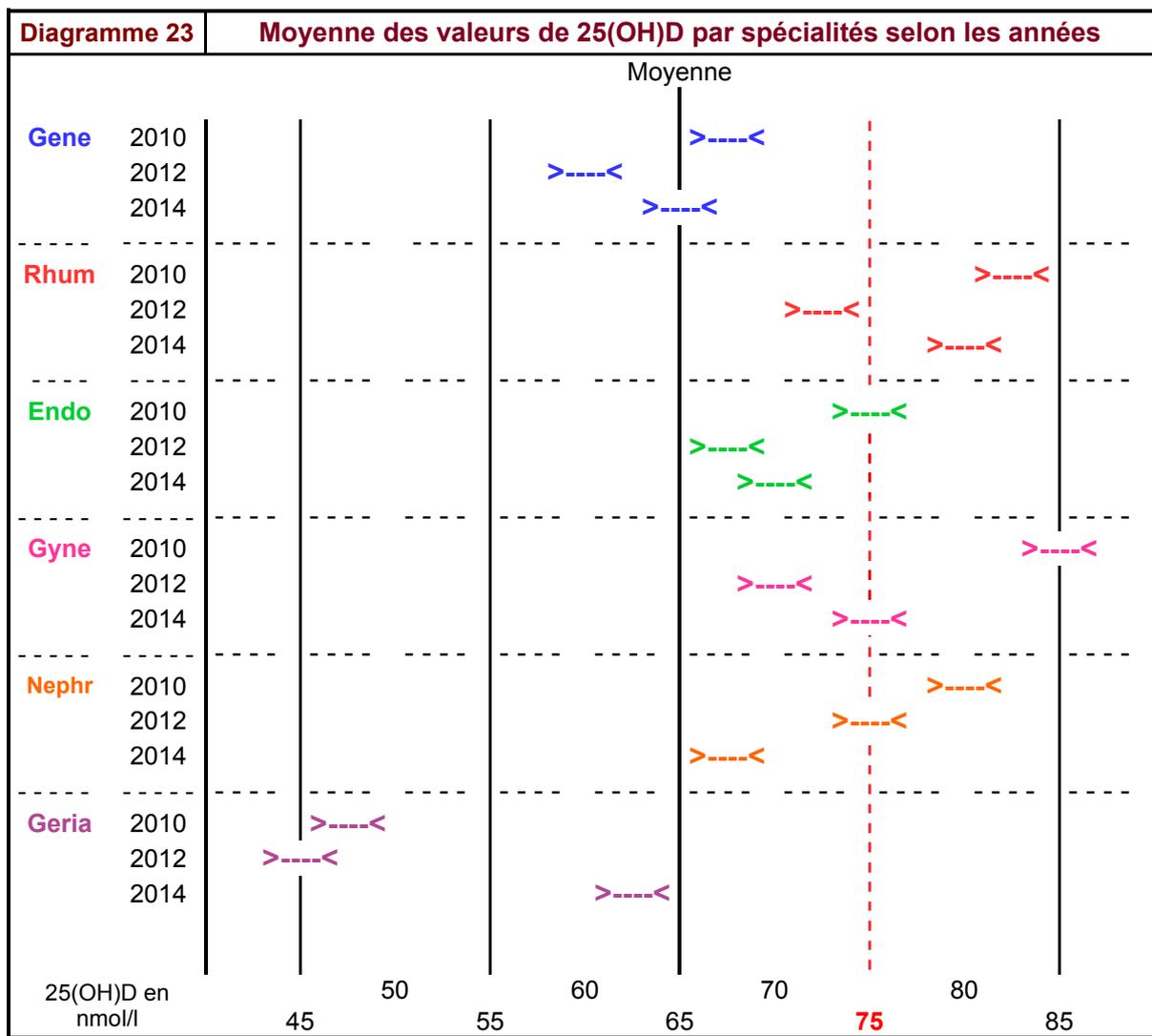


2.2.1.4 Moyenne des taux de 25(OH)D selon la spécialité du prescripteur

Nous avons retenu 6 classes de médecins prescripteurs : généraliste, gynécologue, rhumatologue, néphrologue, endocrinologue et gériatre. Nous avons calculé pour chaque année la moyenne en 25(OH)D pour chacune de ces classes : Tableau 22.

Dans le Diagramme 23, les valeurs moyennes de 25(OH)D sont reportées uniquement pour les années 2010, 2012 et 2014.

Tableau 22	Moyenne en 25(OH)D par prescripteur et par année tous sites confondus							
	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	sur 7 ans
GENE	77,64	69,91	65,75	60,21	63,34	65,64	65,43	64,76
RHUM	87,83	82,10	77,72	73,24	73,07	80,09	74,89	78,30
ENDO	83,55	76,05	72,20	67,42	71,59	69,90	69,71	70,88
GYNE	100,60	86,51	81,63	68,66	69,16	77,79	76,66	77,02
NEPHR	75,00	81,41	75,85	76,01	72,63	67,93	68,62	72,36
GERIA	44,41	48,05	47,25	45,27	50,13	63,02	58,64	54,97



Pour la plupart, les taux de 2010 sont des valeurs relativement élevées, puis diminuent en 2012 et remontent légèrement en 2014 sans arriver néanmoins aux seuils de 2010. Ce n'est pas le cas de la néphrologie où le recul persiste.

La moyenne en 25(OH)D relative à d'autres catégories de prescripteurs a été calculée sur l'ensemble de la période 2009-2015 : on retrouve ainsi une moyenne de 74 nmol/l pour les patients concernés par une chirurgie bariatrique, de 72 nmol/l pour ceux suivis en médecine interne, de 66 nmol/l pour ceux sous chimiothérapie, de 58 nmol/l pour ceux dont le prescripteur est chirurgien (orthopédie).

Discussion sur le statut vitaminique du Marmandais à travers l'étude des moyennes en 25(OH)D

Bien que les populations observées sur les quatre sites soient homogènes pour les paramètres démographiques (rapport femme/homme, tranches d'âge), les moyennes en vitamine D apparaissent plus fluctuantes avec des valeurs plus basses chez les hommes que chez les femmes (5 points d'écart tous sites confondus) et selon les sites avec des valeurs légèrement plus élevées pour les sites de Marmande-Aiguillon et légèrement plus basses pour les sites de Casteljaloux-Tonneins (Tableaux 14 et 15, Diagramme 14). L'écart des moyennes entre les hommes et les femmes varie selon les sites de 3 à 6 points. La valeur moyenne la plus basse est retrouvée chez les hommes du site de Tonneins avec

60,44 nmol/l (le nombre de dosages dans cette population masculine est pourtant identique à celle des autres sites avec 20% des demandes et sa moyenne d'âge également).

- L'étude des moyennes de 25(OH)D par tranche d'âge montre que seuls les enfants de moins de 10 ans ont des moyennes élevées de 25(OH)D quel que soit le sexe (77 nmol/l) (Tableau 16, Diagramme 15). Ceci est le résultat de la politique de supplémentation instaurée depuis des années chez les nourrissons (laits enrichis) et les jeunes enfants. De 10 à 50 ans les taux diminuent progressivement : jusqu'à 50 ans pour les femmes avec des valeurs avoisinant les 65 nmol/l et jusqu'à 60 ans pour les hommes qui conservent des valeurs supérieures à celles des femmes jusqu'à 50 ans. C'est à partir de 50 ans que les valeurs des moyennes s'inversent : les femmes présentent des taux plus élevés avec un pic à 72 nmol/l chez les 60 - 69 ans alors que les hommes sont 7 points en dessous avec un pic également à 60 - 69 ans, mais beaucoup moins prononcé (65 nmol/l) et moins étendu. Après 70 ans les taux de 25(OH)D baissent avec l'avancement en âge. Comme on l'a vu dans la première partie, ce phénomène est expliqué par une diminution progressive de la synthèse cutanée : les concentrations en 7-DHC diminuent ainsi que l'épaisseur de la peau. De même l'hydroxylation de la vitamine D est réduite avec la perte de la fonction rénale, ce qui se traduit sur la courbe du diagramme 15 par une chute des moyennes en 25(OH)D. Le pic observé entre 50 et 70 ans ne peut donc relever que du résultat de la supplémentation orchestrée par les médecins. Cette courbe suit l'évolution de celle de la demande de dosages qui présente elle aussi une forte augmentation chez les personnes entre 50 et 80 ans. Accompagnant le vieillissement de la population, l'ostéoporose constitue une préoccupation de santé publique résultant de la majoration du risque de fracture et des graves complications qui s'en suivent. Le corps médical est consensuel sur le rôle de la vitamine D dans la prévention de ces fractures ostéoporotiques chez la personne âgée de plus de 65 ans associé à un apport calcique suffisant. De même il est reconnu qu'il faut corriger un éventuel déficit en vitamine D pour que le traitement de l'ostéoporose soit efficace (notamment par les bisphosphonates). Pour cette population relativement âgée, la demande de dosage ainsi que la moyenne en 25(OH)D est bien plus basse pour les hommes que pour les femmes : les femmes reçoivent 2,5 fois plus de traitement vitaminique D que les hommes, consultent davantage leur médecin et ont recours à l'automédication bien plus fréquemment que les hommes (la part de l'automédication représenterait 15 % de la population âgée) (180). Pourtant l'ostéoporose masculine existe. Elle est bien souvent sous-diagnostiquée (ainsi que l'hypovitaminose D chez les hommes âgés). Elle devrait être plus souvent recherchée chez les hommes âgés de plus de 70 ans ainsi que chez les plus de 50 ans avec facteurs de risque (180). Dans notre étude, c'est la supplémentation, plus généralisée chez les femmes âgées, qui permet de maintenir un taux moyen en vitamine D supérieur à 63 nmol/l jusqu'à 89 ans, valeur équivalente à celle des femmes de 40 à 49 ans.

Chez les hommes, les valeurs observées chez les adolescents ou les adultes jusqu'à 50 ans sont supérieures à celles des femmes du même âge. Ceci peut être dû au fait qu'on se trouve dans une zone rurale et semi-urbaine. Le nombre d'hommes actifs travaillant à l'extérieur est important : il existe des activités économiques importantes dans le secteur de l'agriculture, de la vigne et du maraîchage autour de Marmande, dans le secteur forestier autour de Casteljaloux et dans les vergers entre Tonneins et Aiguillon. De plus la région profite d'un ensoleillement important entre avril et novembre. Ceci explique les différences retrouvées dans les Tableaux 19-20 et Diagrammes 19-20 : la population de moins de 50 ans, plus fréquemment exposée au travail ou aux loisirs à l'extérieur présente des valeurs de 25(OH)D beaucoup plus basses en hiver et les moyennes de 25(OH)D sont alignées sur l'ensoleillement l'été. En revanche, la courbe des femmes de plus de 50 ans présente moins de variation, la complémentation atténuant le phénomène saisonnier.

- Notre population d'étude du Marmandais est une population homogène selon le critère de l'espace de vie habituel, vivant sous le même régime climatique tempéré avec une durée d'ensoleillement de 2074 heures par an. Nous avons donc traité les 4 sites dans leur globalité lors des études sur l'ensoleillement.

L'influence de l'ensoleillement a été étudiée à plusieurs niveaux :

- les variations du taux d'ensoleillement selon les années se répercutent sur les moyennes de 25(OH)D annuelles (Tableau 17, Diagramme 16). Nous avons ici associé aux moyennes annuelles les pourcentages d'ensoleillement entre les mois d'avril à octobre pour chacune des années. D'après Holick, à une latitude de plus de 40° Nord, l'obliquité des rayons du soleil durant les mois d'hiver n'entraîne pas de synthèse de vitamine D. La synthèse cutanée couvre 50 à 70 % des besoins en période estivale, la qualité et la quantité des rayons UV étant inefficaces durant les mois d'hiver. Avec un éventail élargi de population testée entre 2010 et 2012 (augmentation de 100 % du nombre des analyses) on note une diminution de 17,3 % de la moyenne en 25(OH)D sur ces 3 années consécutives (perte de 11 points : de 73 nmol/l à 62 nmol/l). Plusieurs hypothèses peuvent être émises par rapport à ces chiffres : - cela peut signifier que l'on s'intéresse davantage au dépistage de l'hypovitaminose plutôt qu'au seul suivi des populations à risque et/ou supplémentées en multipliant les dosages.

- cela peut être expliqué par la baisse de l'ensoleillement entre 2010 et 2012 : le pourcentage d'ensoleillement passe de 54,5 % en 2010 à 48 % en 2012 (baisse de 13,5 %). Par contre la remontée des taux d'ensoleillement de 2014 et 2015 n'est pas suivie de la même augmentation des taux moyens de 25(OH)D. Ceux-ci se stabilisent à 66 nmol/l durant ces deux dernières années.

- les variations des moyennes en 25(OH)D par semestre suivent les variations du taux d'ensoleillement par saison hiver-été (Tableau 18, Diagramme 17). Les périodes hiver-été ont été sélectionnées en fonction du nombre d'heures d'ensoleillement mensuelles de notre région d'étude : ce nombre chute à partir du mois de novembre généralement pour remonter selon les années entre mars et juin. La molécule de 25(OH)D ayant une demi-vie de 3 à 4 semaines nous avons choisi de débiter la saison "hiver" en décembre et donc la saison "été" en juin (présentant toujours une valeur élevée d'heures d'ensoleillement contrairement aux mois d'avril et mai plus fluctuantes). Le taux de 25(OH)D suit exactement les décalages d'ensoleillement saisonniers. La synthèse de vitamine D diminue nettement durant l'hiver.

- les variations mensuelles des moyennes en 25(OH)D (Tableau 19, Diagramme 18) : la concentration mensuelle suit l'évolution croissante de l'ensoleillement à partir du printemps. On note une augmentation constante des taux de 25(OH)D à partir du mois d'avril. Bien qu'étant l'année la moins ensoleillée, l'année 2013 a été choisie car elle regroupe à elle seule plus de 9000 valeurs.

Les femmes présentent toujours une moyenne plus élevée que les hommes sauf pour le mois de Septembre. Cette différence homme/femme est plus importante durant les mois d'hiver : jusqu'à 10 points d'écart en Février (Tableau 19, Diagramme 19).

La majorité des analyses (78%) étant réalisée chez les femmes avec une part de 80 % pour les femmes de plus de 50 ans, seule la supplémentation peut expliquer ces taux supérieurs aux hommes durant les mois d'hiver. Chez les hommes la différence entre les deux saisons hiver/été est bien plus marquée : la moyenne augmente de 68 % entre février et septembre contre 38 % chez les femmes. Ainsi on peut observer qu'après un mois très ensoleillé comme le mois de juin 2013 une élévation conséquente du taux de 25(OH)D se répercute dès le mois suivant (18 % d'augmentation) chez les hommes. A partir du mois d'octobre la

durée mensuelle d'ensoleillement décroît ainsi que le taux de vitamine D mais sans retrouver le mois de décalage. Pourtant les réserves faites durant les mois d'été devraient permettre un maintien des taux durant un à deux mois au moins selon la littérature.

Afin de court-circuiter l'effet de la supplémentation chez certains patients âgés, nous avons étudié les variations de concentration en 25(OH)D chez les deux sexes en fonction de deux tranches d'âge (Tableau 20 et Diagramme 20). Les femmes de moins de 50 ans, généralement non supplémentées, se retrouvent avec des valeurs similaires à celles des hommes du même âge et leurs courbes se superposent. En revanche, pour les sujets de plus de 50 ans, les valeurs hivernales des femmes sont nettement moins dépréciées durant l'hiver et à partir du mois de juin les courbes se rejoignent. La courbe la plus plate est celle des femmes de plus de 50 ans (la supplémentation des personnes âgées se fait tout au long de l'année). L'effet de la supplémentation sur la différence des taux homme/femme ne joue que durant ces mois d'hiver (les hommes de plus de 50 ans, le plus souvent non supplémentés arrivent en été à des taux similaires à ceux des femmes supplémentées du même âge). La population âgée (hommes et femmes) s'expose moins au soleil et synthétise moins bien la vitamine D aussi les valeurs de ces patients restent inférieures durant les mois d'été aux valeurs des sujets de moins de 50 ans.

→ **Comparaison avec l'étude d'Hyppönen : Influence du facteur latitude**

L'étude d'Hyppönen et Power (178) porte sur les moyennes des concentrations en 25(OH)D (dosage immunoenzymatique) de 7437 sujets (autant d'hommes que de femmes) sains, volontaires, habitants différentes régions de Grande Bretagne (latitude : 50 à 60°N) en fonction des mois de l'année. La comparaison entre les deux études montre une répartition similaire des concentrations en vitamine D : Diagrammes 21 et 22. Les deux graphiques expriment les mêmes variations selon les mois, plus marquées en Grande Bretagne. Hyppönen retrouve des valeurs plus élevées chez les hommes que chez les femmes lors des mois d'été et d'automne. Cette différence n'est pas retrouvée chez nous. Nos valeurs les plus basses se situent en janvier et février comme chez Hyppönen : la moyenne la plus basse est de 44 nmol/l chez nous et se situe en-dessous de 35 nmol/l chez Hyppönen. De même la prévalence de la carence en Grande Bretagne (< 25 nmol/l) varie de 15,5 % en hiver à 3,2 % en été (chez nous elle est de 5 % en hiver à 1,2 % en été pour des sujets de 30 à 54 ans)(Tableau 42) et celle de l'insuffisance (< 75 nmol/l) de 87,1% en hiver à 61 % en été (versus 73 % à 55 % dans le Marmandais). Ces valeurs plus basses en Grande Bretagne sont dues à une différence de latitude (44 °N pour le Marmandais versus 50-60°N). Ainsi dans le nord de la France (50°N), le BEH indique des valeurs d'ensoleillement < 1650 h/an, une moyenne de 18,5 nmol/l en hiver et 25,6 nmol/l en été, une carence de 10,2 % en hiver et 2,9 % en été (146). Cette diminution graduelle des taux de 25(OH)D au fur et à mesure que la latitude augmente est due à un plus faible ensoleillement lui-même étant la conséquence de la conjonction de l'allongement de la distance à parcourir à travers l'atmosphère pour les rayons du soleil (aspect quantitatif) et de l'obliquité des rayons par rapport à la couche d'ozone se traduisant par une diminution d'intensité (aspect qualitatif) (22,30,31). Pour Hyppönen, le mois de prélèvement est le plus prédictif : il explique 21 % des variations des concentrations en 25(OH)D.

→ **Moyenne par prescripteur**

L'étude des moyennes par prescripteur nous montre que les généralistes ont des patients dont la moyenne se situe entre 60 et 70 nmol/l selon les années (Tableau 22, Diagramme 23). Ceci est représentatif de notre moyenne générale puisque les généralistes prescrivent 77 % des demandes.

- Les rhumatologues, les endocrinologues et les gynécologues maintiennent la concentration en 25(OH)D de leur patient autour du seuil de 75 nmol/l déterminé comme le seuil assurant un statut osseux optimal et diminuant les risques relatifs liés à certaines pathologies extra-osseuses (diabète, polyarthrite rhumatoïde...). On retrouve pour tous ces prescripteurs une diminution des taux lors de l'année 2012 (année peu ensoleillée). Ces taux remontent en 2013 et se stabilisent en 2014-2015 sauf pour la néphrologie où la baisse des moyennes se poursuit jusqu'en 2014-2015 alors que le nombre de dosages augmente dans cette catégorie (Tableau 50).

- L'importance de maintenir un taux supérieur à 75 nmol/l pour les patients en IRC est une donnée consensuelle : ce taux permet d'éviter les hyperparathyroïdies secondaires responsables en partie de la maladie rénale chronique (ostéodystrophie, polycystose et calcifications vasculaires). Pour Souberbielle ce seuil minimal de 75 nmol/l, atteint uniquement par une supplémentation systématique, freine la progression de l'IRC en modifiant la sclérose glomérulaire et par diminution de l'albuminurie (53).

- Les gériatres ont en consultation une population âgée, voire très âgée de patients (moyenne d'âge : 83,5 ans), d'où l'observation de taux assez bas, entre 45 et 50 nmol/l. Cependant on note une amélioration sur les dernières années 2014-2015 avec une remontée des valeurs comprises entre 58 et 63 nmol/l.

La diminution des demandes d'analyses observée après 2013 pour l'ensemble des spécialités ne touche pas ces deux dernières catégories à savoir néphrologues et gériatres (100 % d'augmentation pour la néphrologie entre 2012 et 2015)(Diagramme 54)

- Les patients suivis dans le cadre d'une chirurgie bariatrique ont une moyenne de 72 nmol/l. Les recommandations de l'HAS 2009 et 2013 demandent qu'un taux de 75 nmol/l soit atteint et conservé avant et après chirurgie. Ce niveau de 75 nmol/l doit être constaté par un dosage de 25(OH)D. Dans nos valeurs sont incluses indifféremment celles données par un bilan pré-opératoire, souvent plus basses et donc à corriger éventuellement et celles des suivis postérieurs à la chirurgie. La séquestration de la vitamine D augmente avec l'IMC et donc avant chirurgie bariatrique, les personnes obèses sans supplémentation ont des taux de 25(OH)D assez bas sans présenter cependant d'ostéoporose. Le by-pass induit une diminution importante de l'absorption de la vitamine D (et du calcium) suite à l'exclusion duodéno-jéjunale et, sans supplémentation, on observe en général une perte osseuse accélérée. Le suivi de la vitamine D après gastroplastie montre la survenue d'un déficit chez 7 à 51% des patients dans les années suivant l'opération et peut s'accompagner d'une hyperparathyroïdie secondaire chez environ 49% des patients (181).

- Les taux moyens de 25(OH)D relativement bas de 58 nmol/l observés pour la catégorie chirurgie peuvent s'expliquer par le fait qu'il s'agit le plus souvent d'une chirurgie réparatrice de la hanche ou du genou (les 3 chirurgiens orthopédiques libéraux de Marmande sont prescripteurs des 3/4 des dosages de cette catégorie) s'adressant à des personnes âgées. La moyenne d'âge de la classe "CHIR" est de 70 ans et la moyenne générale en 25(OH)D de cette classe d'âge se situe entre 67 et 70 nmol/l, donc bien au-dessus des 58 nmol/l. Or on sait que le déficit en vitamine D aggrave l'ostéoporose, elle-même associée au risque de fracture. Les études de prévalence citées dans la première partie donnent des taux de 95 à 100 % d'hypovitaminose D chez les femmes âgées ostéoporotiques et/ou hospitalisées (144,150). Une étude de Bischoff-Ferrari menée en Suisse sur des patients ayant eu une fracture de la hanche présente des taux d'insuffisance en vitamine D (< 75 nmol/l) de 96 % (162).

2.2.2 Etude des statuts vitaminiques D

2.2.2.1 Statut vitaminique D au seuil de 75 nmol/l

→ selon le sexe

Tableau 23	Statut vitaminique D au seuil de 75 nmol/l (%)	
	Hypovitaminose D < 75 nmol/l	Statut optimal ≥ 75 nmol/l
tout sexe	66	34
Femme	65	35
Homme	71	29

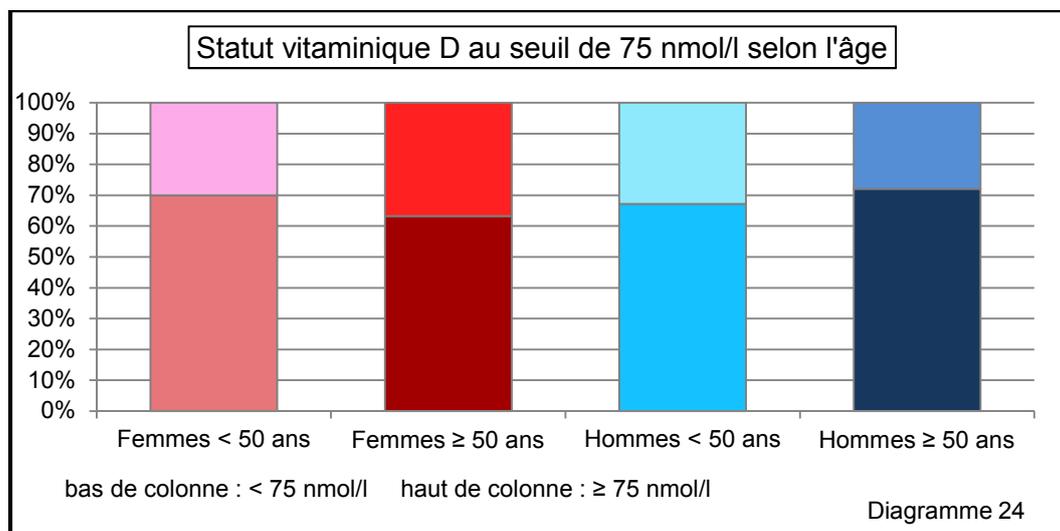
Tableau 24	Statut vitaminique D au seuil de 75 nmol/l selon l'âge (%)	
	< 75 nmol/l	≥ 75 nmol/l
Femmes < 50 ans	70,00	30,00
Femmes ≥ 50 ans	63,26	36,74
Hommes < 50 ans	67,21	32,79
Hommes ≥ 50 ans	72,08	27,92

Le taux d'hypovitaminose D (taux < à 75 nmol/l) tous sites confondus est de 66 %. Il est supérieur chez les hommes : 71 % par rapport aux femmes : 65 %.

34 % de la population bénéficie d'un statut vitaminique D souhaitable : 35 % chez les femmes et 29 % chez les hommes.

→ selon la tranche d'âge

La prévalence de l'hypovitaminose D est maximale chez les hommes de plus de 50 ans. Elle est minimale chez les femmes âgées de plus de 50 : Tableau 24 et Diagramme 24.

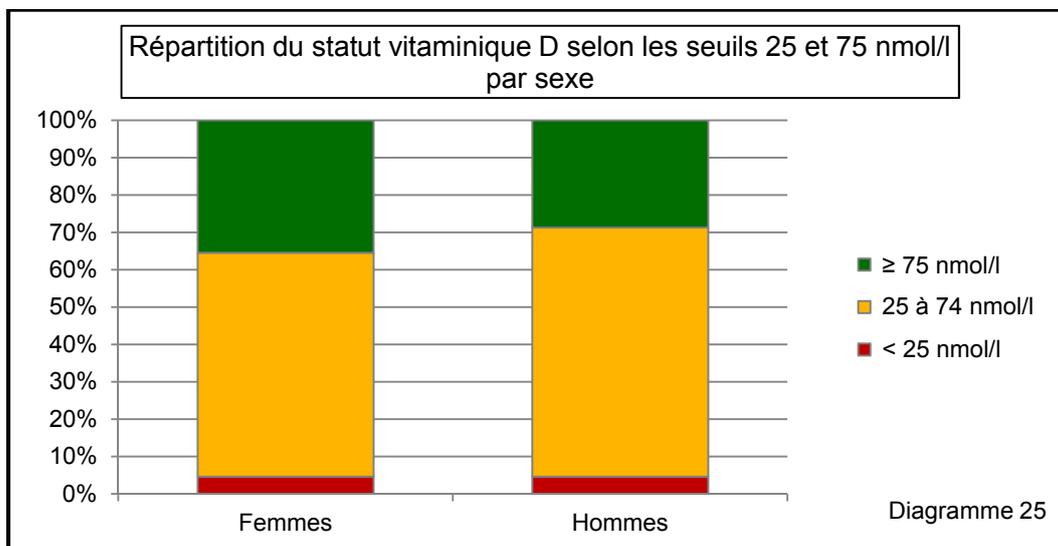


2.2.2.2 Statut vitaminique D selon des seuils intermédiaires

→ statut vitaminique D selon les seuils de 25 et 75 nmol/l par sexe

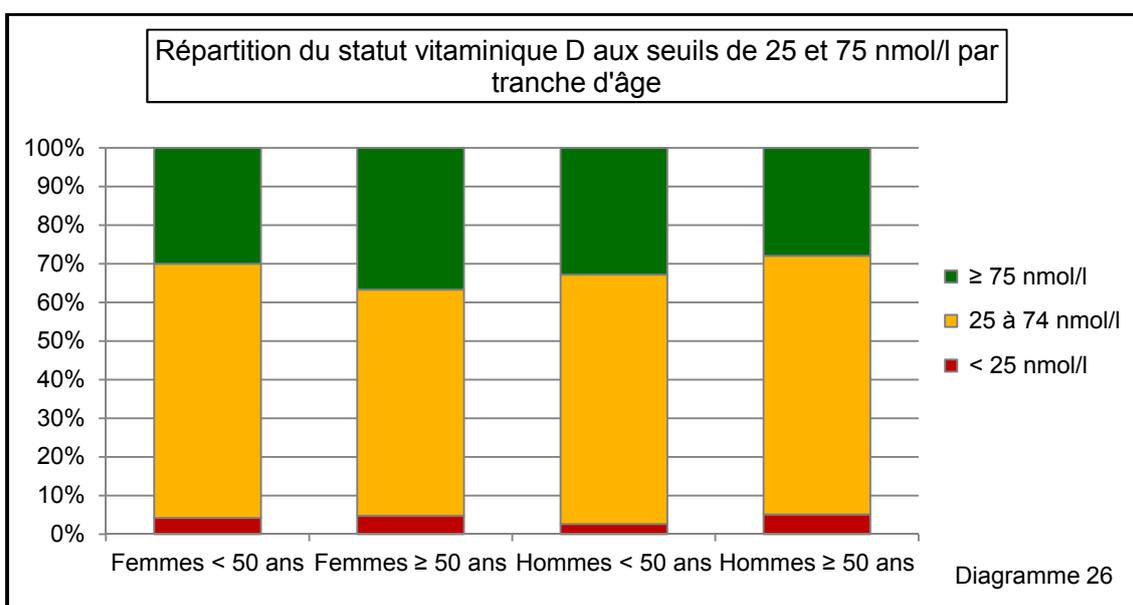
Tableau 25	Répartition du statut vitaminique D aux seuils de 25 et 75 nmol/l par sexe (%)		
	Carence < 25 nmol/l	Insuffisance 25 à 74 nmol/l	Statut optimal ≥ 75 nmol/l
Tout sexe	4,65	61,39	33,97
Femmes	4,64	59,92	35,44
Hommes	4,66	66,6	28,74

La carence en vitamine D ne dépasse pas 5 %
 L'insuffisance (entre 25 et 75 nmol/l) est de 60 % chez les femmes et de 67 % chez les hommes.



→ statut vitaminique D selon les seuils de 25 et 75 nmol/l par tranche d'âge

Tableau 26	Répartition du statut vitaminique D aux seuils de 25 et 75 nmol/l par tranche d'âge (%)		
	Carence < 25 nmol/l	Insuffisance 25 à 74 nmol/l	Statut optimal ≥ 75 nmol/l
Femmes < 50 ans	4,15	65,85	30,00
Femmes ≥ 50 ans	4,76	58,50	36,74
Hommes < 50 ans	2,63	64,57	32,79
Hommes ≥ 50 ans	5,07	67,01	27,92

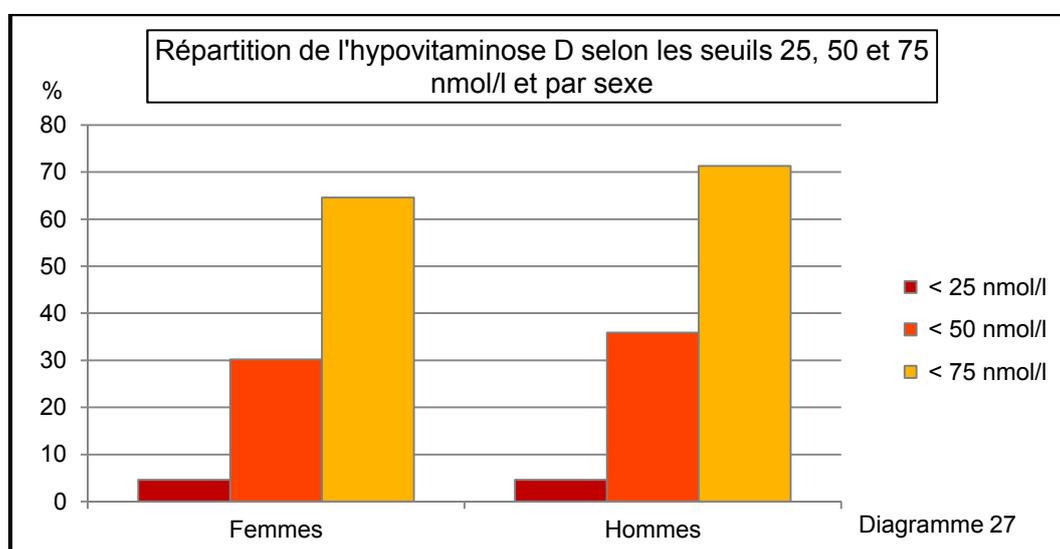


La carence (< 25 nmol/l) est plus prononcée chez les sujets hommes ou femmes âgées de plus de 50 ans. Les hommes "jeunes" ont un taux de carence de 2,6 %.

L'insuffisance (entre 25 et 74 nmol/l) est plus élevée chez les femmes de moins de 50 ans (66%) et chez les hommes de plus de 50 ans (67%).

→ statut vitaminique D selon les seuils 25, 50 et 75 nmol/l par sexe

Tableau 27	Répartition du statut vitaminique D selon les seuils 25, 50 et 75 nmol/l (%)				
25(OH)D	< 25 nmol/l	< 50 nmol/l	< 75 nmol/l	≥ 50 nmol/l	≥ 75 nmol/l
Tout sexe	4,65	31,43	66,03	68,57	33,97
Femmes	4,64	30,17	64,56	69,83	35,44
Hommes	4,66	35,91	71,26	64,09	28,74



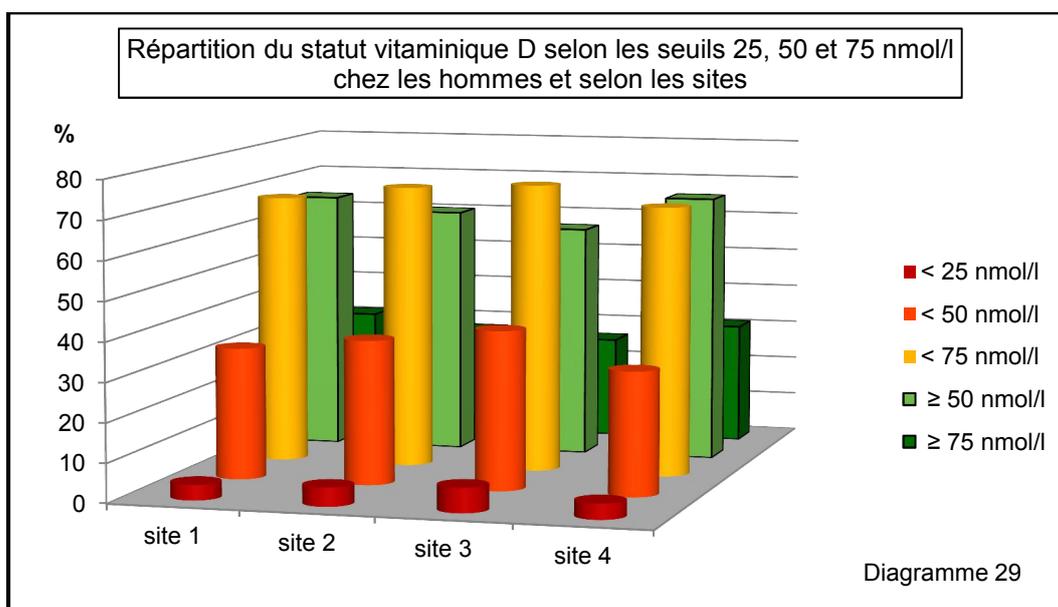
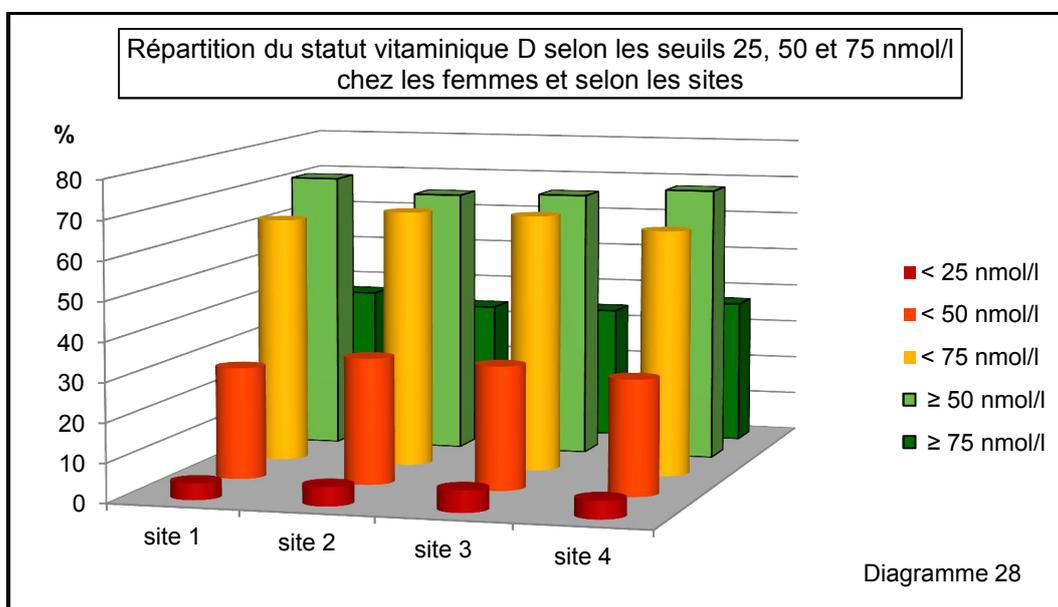
Avec un seuil à 50 nmol/l : les chiffres évoluent bien sûr favorablement avec 69 % de la population dotée d'un statut vitaminique optimal dont 70 % de femmes et 64 % d'hommes.

→ statut vitaminique D selon les seuils de 25, 50 et 75 nmol/l par site et par sexe

Tableau 28	Répartition du statut vitaminique D selon les seuils 25, 50 et 75 nmol/l chez les femmes et selon les sites (%)						
25(OH)D	< 25 nmol/l	25-49 nmol/l	< 50 nmol/l	50-74 nmol/l	< 75 nmol/l	≥ 50 nmol/l	≥ 75 nmol/l
site 1	4,15	24,37	28,52	34,69	63,21	71,48	36,79
site 2	4,78	27,38	32,15	33,93	66,08	67,85	33,92
site 3	5,50	25,93	31,43	34,56	65,99	68,57	34,01
site 4	4,56	24,85	29,41	33,62	63,03	70,59	36,97

Tableau 29	Répartition du statut vitaminique D selon les seuils 25, 50 et 75 nmol/l chez les hommes et selon les sites (%)						
25(OH)D	< 25 nmol/l	25-49 nmol/l	< 50 nmol/l	50-74 nmol/l	< 75 nmol/l	≥ 50 nmol/l	≥ 75 nmol/l
site 1	3,92	29,66	33,58	35,51	69,08	66,42	30,92
site 2	4,73	32,04	36,77	35,82	72,59	63,23	27,41
site 3	6,26	34,15	40,41	33,57	73,98	59,59	26,02
site 4	3,96	27,53	31,50	37,67	69,16	68,50	30,84

La carence varie selon les sites et selon les sexes : chez les hommes, on retrouve les variations les plus importantes avec 6,26 % pour Tonneins et 3,92 % pour Marmande. Le déficit sévère (entre 25 et 50 nmol/l) varie de 24,4 % (femmes Marmande) à 34,2 % (hommes Tonneins). L'insuffisance modérée (entre 50 et 75 nmol/l) varie peu : de 33,6 % (femmes Aiguillon) à 37,7 % (hommes Aiguillon). Tableaux 28 et 29, Diagrammes 28 et 29.



➔ statut vitaminique D selon les seuils de 25, 50 et 75 nmol/l par tranche d'âge

Le Tableau 30 et Diagramme 30 répartissent les différents niveaux d'hypovitaminose D par tranches d'âge. Le niveau de carence augmente avec l'âge ainsi que l'insuffisance sévère (< 50 nmol/l).

25(OH)D	Répartition du statut vitaminique D aux seuils de 25, 50 et 75 nmol/l par tranche d'âge (%)			
	< 25 nmol/l	< 50 nmol/l	< 75 nmol/l	≥ 75 nmol/l
≤ 9 ans	0,97	18,36	55,07	44,93
10-18 ans	1,30	26,63	66,85	33,15
19-29 ans	3,42	31,87	67,78	32,22
30-54 ans	3,88	31,74	69,51	30,49
55-74 ans	2,79	26,32	62,69	37,31
> 75 ans	8,40	39,46	68,57	31,43

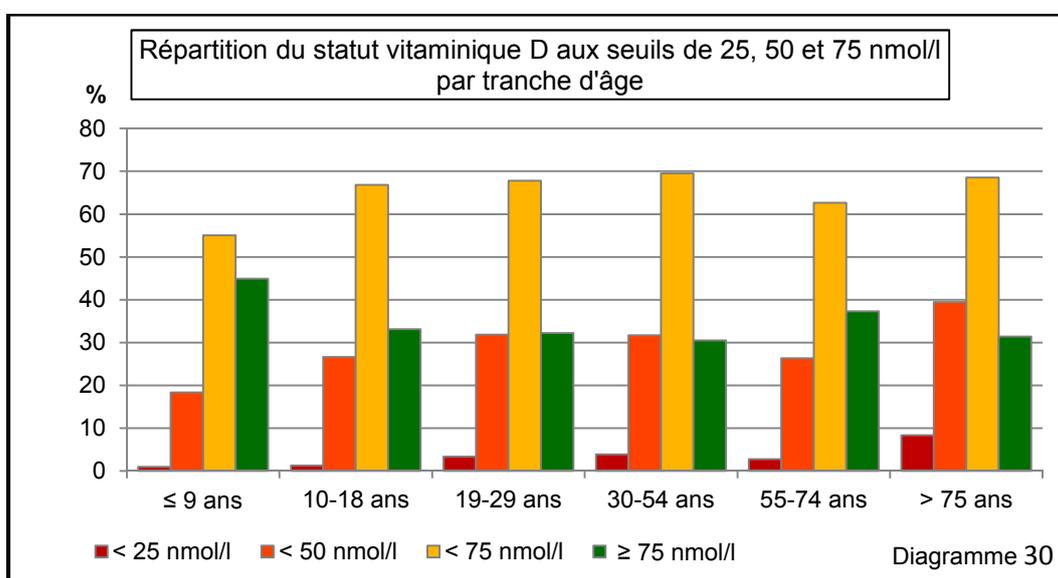
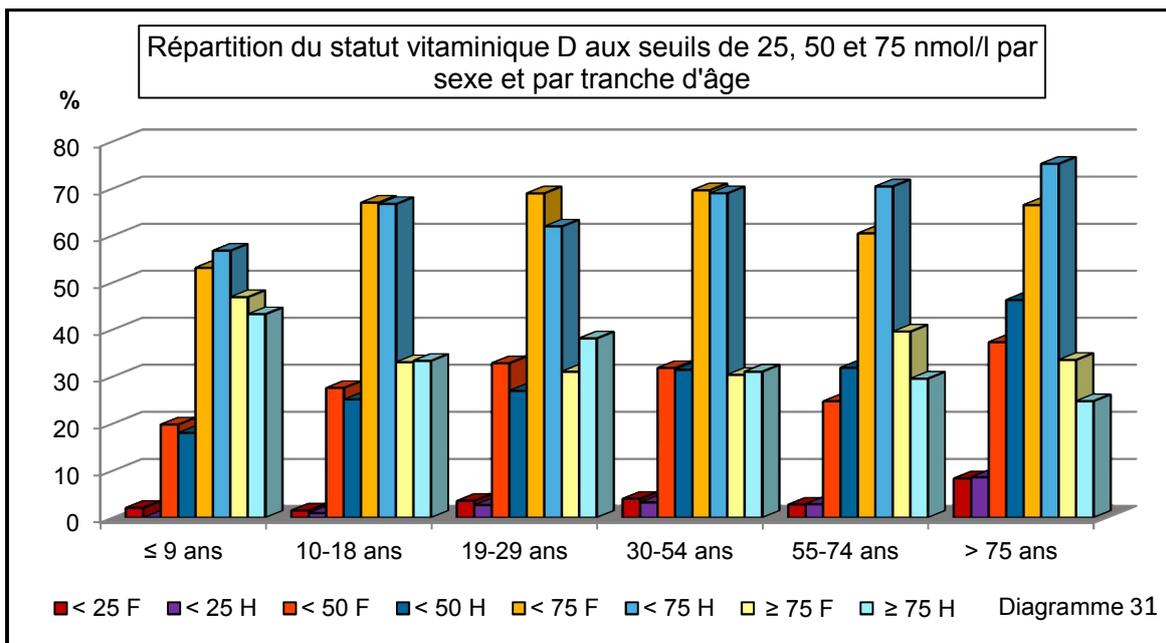


Tableau 31 et Diagramme 31 : reprise des mêmes valeurs seuils en fonction du sexe.

25(OH)D	Répartition du statut vitaminique D aux seuils de 25, 50 et 75 nmol/l par sexe et par tranche d'âge (%)							
	< 25 F	< 25 H	< 50 F	< 50 H	< 75 F	< 75 H	≥ 75 F	≥ 75 H
≤ 9 ans	2,08	0,00	19,79	18,02	53,13	56,76	46,88	43,24
10-18 ans	1,52	0,97	27,58	25,12	66,97	66,67	33,03	33,33
19-29 ans	3,58	2,65	32,84	26,98	68,95	61,90	31,05	38,10
30-54 ans	4,02	3,20	31,80	31,44	69,62	68,96	30,38	31,04
55-74 ans	2,77	2,88	24,72	31,87	60,45	70,44	39,55	29,56
> 75 ans	8,34	8,60	37,32	46,29	66,47	75,23	33,53	24,77

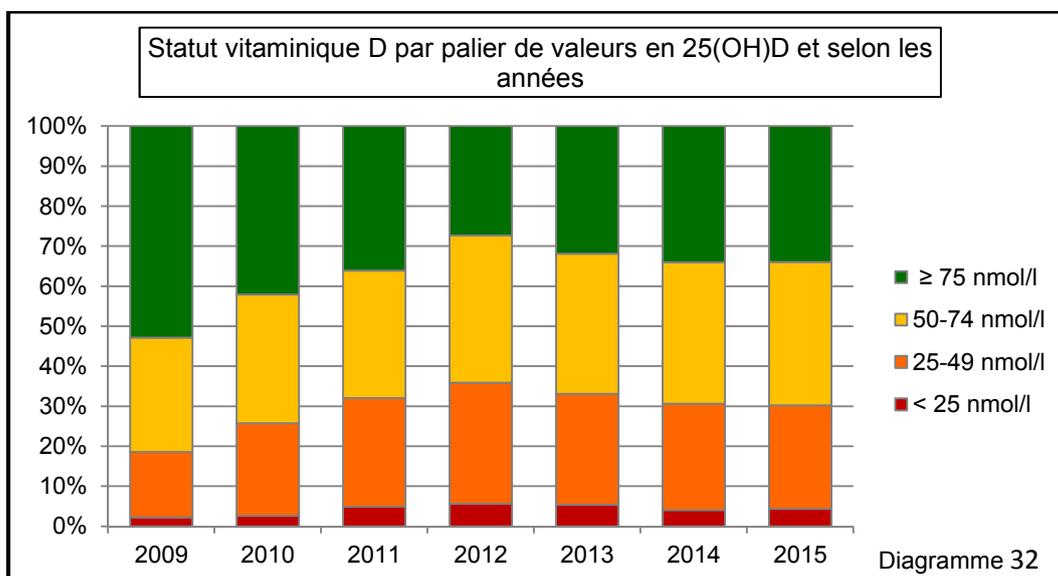


➔ statut vitaminique D selon les seuils 25, 50 et 75 nmol/l au fil des années

La répartition des différents niveaux d'hypovitaminose D a été calculée par année de 2009 à 2015

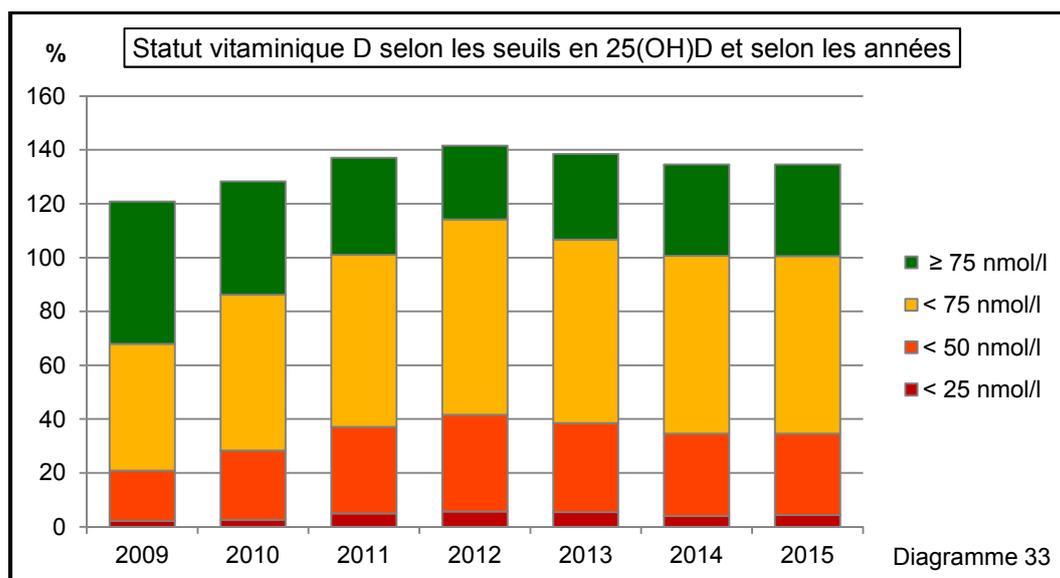
- Par tranches de valeurs en 25(OH)D : Tableau 32 et Diagramme 32

Tableau 32	Statut vitaminique D par palier de valeurs en 25(OH)D et selon les années (en %)						
	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
< 25 nmol/l	2,26	2,62	4,97	5,67	5,43	4,05	4,37
25-49 nmol/l	16,29	23,10	27,11	30,24	27,68	26,54	25,82
50-74 nmol/l	28,55	32,18	31,85	36,73	35,05	35,41	35,83
≥ 75 nmol/l	52,89	42,10	36,08	27,36	31,85	34,00	33,97



- Par seuils de déficience: Tableau 33 et Diagramme 33

Tableau 33	Statut vitaminique D selon les seuils en 25(OH)D et selon les années (%)						
	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
< 25 nmol/l	2,26	2,62	4,97	5,67	5,43	4,05	4,37
< 50 nmol/l	18,55	25,72	32,07	35,91	33,10	30,59	30,19
< 75 nmol/l	47,11	57,90	63,92	72,64	68,15	66,00	66,03
≥ 75 nmol/l	52,89	42,10	36,08	27,36	31,85	34,00	33,97

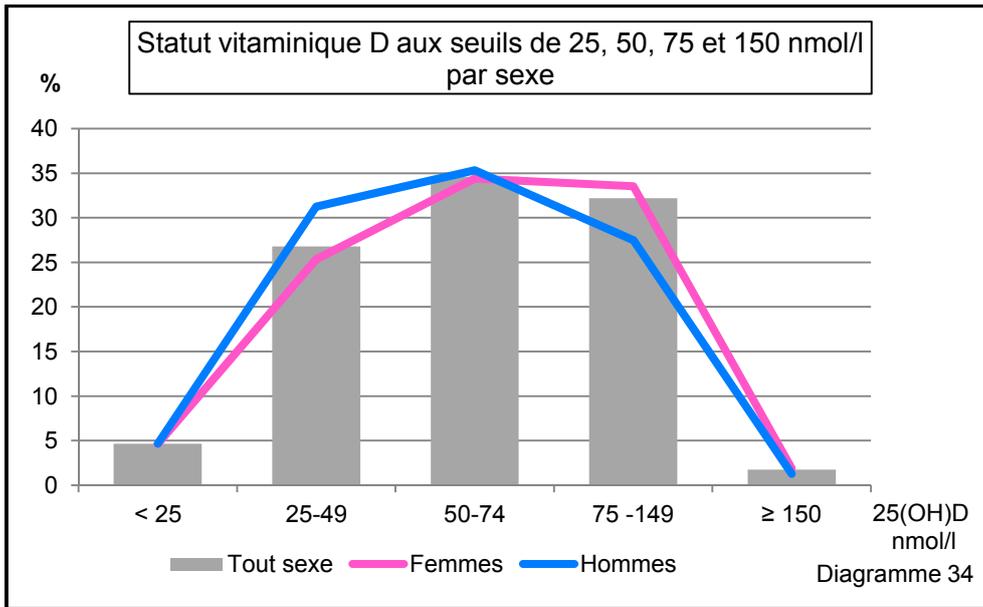


Les pourcentages d'hypovitaminose D, quel que soit le seuil, augmentent d'année en année avec un maximum en 2012 puis se stabilisent en 2014-2015.

➔ statut vitaminique D selon les seuils de 25, 50, 75 et 150 nmol/l par sexe

Tableau 34	Statut vitaminique D selon les seuils 25, 50, 75 et 150 nmol/l par sexe (%)				
25(OH)D nmol/l	< 25	25-49	50-74	75-149	≥ 150
Tout sexe	4,65	26,79	34,60	32,21	1,76
Femmes	4,64	25,33	34,39	33,54	1,90
Hommes	4,66	31,25	35,35	27,49	1,25

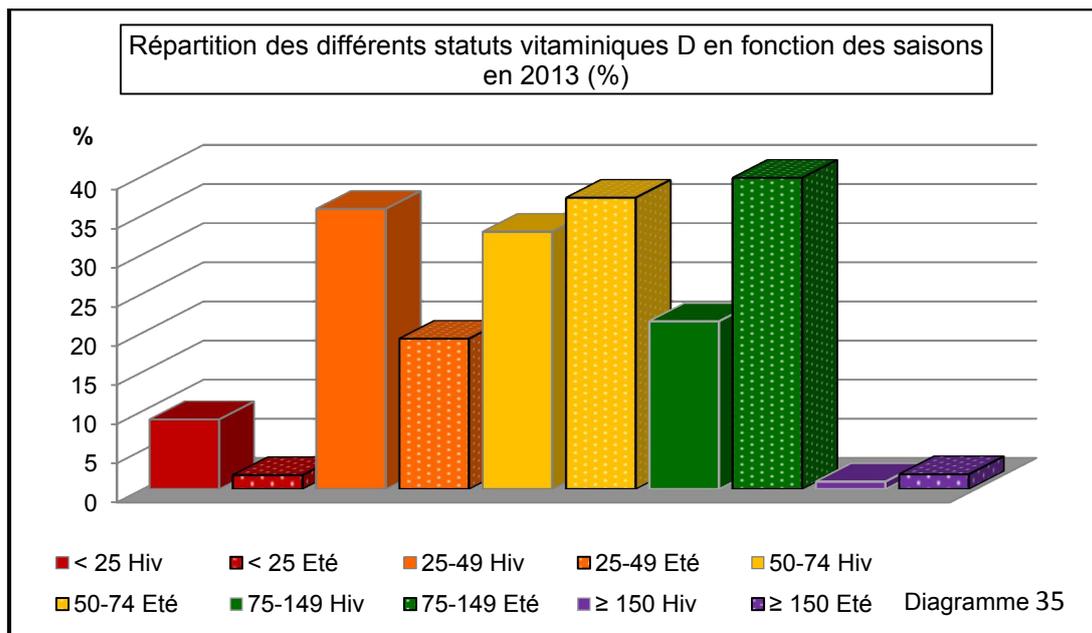
L'insuffisance modérée (50-74 nmol/l) est plus répandue (35%) que le déficit sévère (25-49 nmol/l) (27%). Environ 2 % de la population se trouve au-dessus de 150 nmol/l.



→ statut vitaminique D selon les seuils de 25, 50, 75 et 150 nmol/l par saison

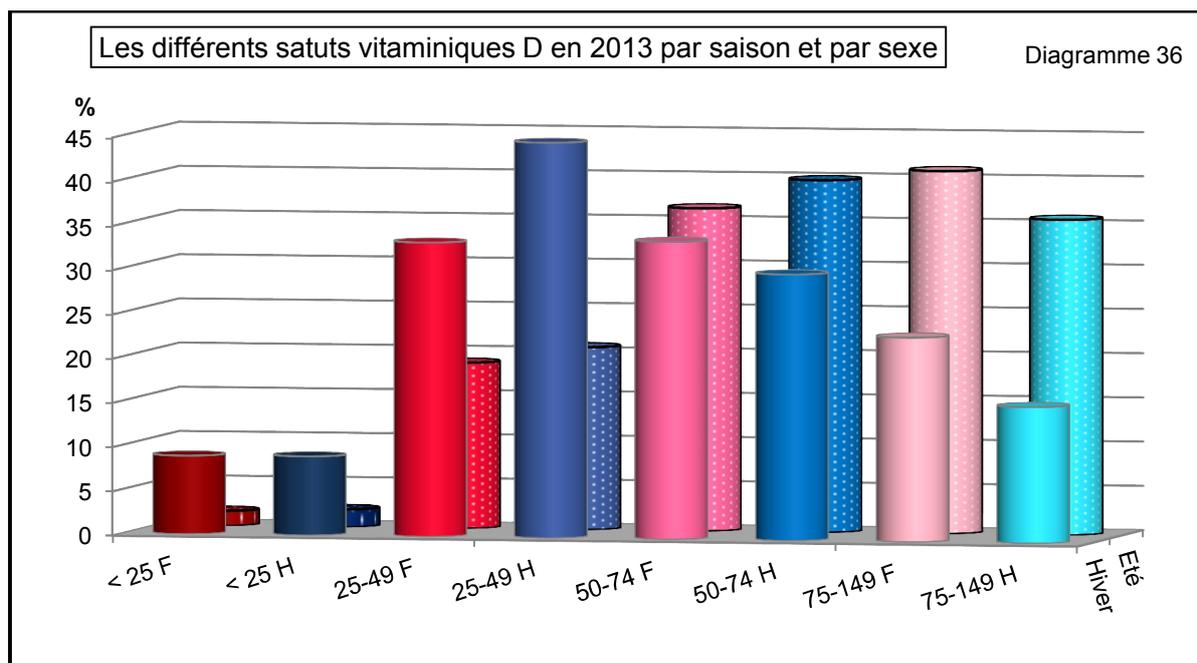
La saison hivernale (Hiv) comprend les mois de décembre 2012 à mai 2013; la saison estivale, les mois de juin 2013 à novembre 2013.

25(OH)D nmol/l	< 25 Hiv	< 25 Eté	25-49 Hiv	25-49 Eté	50-74 Hiv	50-74 Eté	75-149 Hiv	75-149 Eté	≥ 150 Hiv	≥ 150 Eté
	8,91	1,79	35,80	19,22	32,88	37,22	21,44	39,77	0,97	1,90



→ statut vitaminique D selon les seuils de 25, 50, 75 et 150 nmol/l par saison et par sexe

Tableau 36	Répartition des différents statuts vitaminiques D en 2013 par saison et par sexe (%)										
	25(OH)D nmol/l	< 25 F	< 25 H	25-49 F	25-49 H	50-74 F	50-74 H	75-149 F	75-149 H	≥ 150 F	≥ 150 H
Hiver		8,90	8,96	33,28	44,71	33,66	30,12	23,14	15,44	1,02	0,76
Eté		1,72	2,04	18,77	20,67	36,53	39,85	41,03	35,68	1,95	1,76



Discussion sur la prévalence de l'insuffisance en vitamine D de notre population Marmandaise

Notre étude sur la prévalence des niveaux d'hypovitaminose D a été menée selon différents seuils de concentration en 25(OH)D. En général le statut de carence (ou déficit sévère) est défini par une concentration < 25 nmol/l, en dessous de laquelle apparaissent les signes cliniques de l'ostéomalacie. Le statut optimal est défini comme une concentration > 75 nmol/l, seuil qui correspond à une absorption intestinale optimale du calcium et à une concentration sérique minimale de PTH (138). Le seuil de 50 nmol/l utilisé dans certaines études est la concentration minimale pour éviter les effets délétères sur le capital osseux (débat entre ES et IOM). Les différents niveaux intermédiaires qui en découlent (25-50 et 50-75 nmol/l) ne correspondent pas à un risque prouvé de façon immédiate pour la santé, mais ils présentent un intérêt en raison de leurs effets potentiels sur la santé osseuse (ostéoporose), mais aussi pour les risques associés à certaines maladies chroniques (cancers, diabète..). L'importance de la significativité de ces seuils retentit sur l'attitude diagnostique et thérapeutique du médecin traitant. Devant les résultats d'un patient : 7,5 % d'entre eux se réfèrent aux valeurs affichées par le laboratoire, 58 % se réfèrent à un seuil < 75 nmol/l pour le statut d'hypovitaminose D (pour d'autres le seuil sera plus élevé ou plus bas) (180).

- Le taux d'hypovitaminose D (< 75 nmol/l) dans notre population est de 66 %. Il est plus élevé chez les hommes de plus de 50 ans (72 %) et les femmes de moins de 50 ans (70%). Les pourcentages les plus bas sont ceux des femmes de plus de 50 ans (63%). La supplémentation des femmes à partir de 50 ans est la seule explication à cette différence observée entre les sexes : 9 points d'écart entre homme et femme chez les sujets âgés (Tableaux 23, 24 et Diagramme 24).

- La carence (< 25 nmol/l) touche 4,6 % de notre population quel que soit le sexe, et l'insuffisance (entre 25 et 75 nmol/l) 60 % des femmes et 67 % des hommes (Tableau et Diagramme 25). Chez les hommes de moins de 50 ans, les plus exposés au travail en plein air, la carence se limite à 2,6 % de la population (Tableau et Diagramme 26) et l'insuffisance à 64,5 %. Ce sont les femmes âgées de plus de 50 ans qui ont le taux d'insuffisance le plus bas avec 58,5 %.

- La même opération avec un seuil optimal fixé à 50 nmol/l fait diminuer la prévalence de l'hypovitaminose D de 66 % à 31 % (Tableau et Diagramme 27). Deux tiers de la population se trouvaient en hypovitaminose D avec un seuil < 75 nmol/l, moins d'un tiers avec ce nouveau seuil.

- Des disparités apparaissent selon les sites : Tableaux et Diagrammes 28-29. Par exemple, la carence varie de 3,92 % (hommes de Marmande) à 6,26 % (hommes de Tonneins). Le déficit modéré (< 50 nmol/l) varie de 28,5 % (femmes de Marmande) à 40,5 % (hommes Tonneins). Pratiquement tous les pourcentages de l'insuffisance sévère ou modérée (25-50 et 50-75 nmol/l respectivement) sont plus élevés chez les hommes que chez les femmes alors que cette tendance s'inverse pour la carence.

- Le détail par tranches d'âge (Tableaux et Diagrammes 30-31) fait apparaître une carence très marquée chez les personnes de plus de 75 ans (plus de 8%) quel que soit le sexe. Cette carence augmente avec l'âge (de 1 % chez les moins de 10 ans à 8 % chez les plus de 75 ans). De même, l'insuffisance sévère (< 50 nmol/l) augmente avec l'âge pour atteindre un plateau à 30 % entre 19 et 54 ans. Jusqu'à 30 ans elle est plus marquée chez les femmes, puis après 55 ans elle devient plus marquée chez les hommes (Diagramme 31). Entre 30 et 55 ans on retrouve une égalité homme/femme quel que soit le seuil choisi (68 % pour un seuil < 75 nmol/l et 32 % pour un seuil de 50 nmol/l). Pour les autres niveaux de vitamine D, les différences ne sont pas très importantes entre homme et femme. A partir de 10 ans, le statut optimal (> 75 nmol/l) varie autour des 30 % (homme ou femme) quelle que soit la tranche d'âge avec un maximum pour les femmes de 55-74 ans (40%). Les plus de 75 ans, hommes ou femmes, ont les taux d'hypovitaminose D les plus élevés quel que soit le seuil. Ils représentent 41 % des sujets carencés.

La supplémentation chez les enfants de moins de 10 ans permet d'obtenir un taux de carence < 1 % et 45 % d'entre eux ont un statut optimal en vitamine D. Chez les femmes de plus de 55 ans, elle permet de maintenir les taux d'hypovitaminose D à des niveaux inférieurs à ceux des hommes du même âge (60 contre 70 % pour les 55-74 ans et 66 contre 75 % chez les plus de 75 ans) alors que ces taux d'hypovitaminose D homme/femme sont similaires dans la tranche 30-54 ans.

- Les niveaux de carence, d'insuffisance sévère et modérée et de suffisance varient au cours des années (Tableau et Diagramme 32) se répercutant sur la prévalence de l'hypovitaminose D selon les divers seuils étudiés (Tableau et Diagramme 33). On a vu que les années 2012 et 2013 présentaient des taux d'ensoleillement moins importants que les autres années, ce qui se répercute par des pourcentages plus importants d'hypovitaminose D (27 % des sujets seulement présentent un statut optimal en 2012). Cependant, comme pour les moyennes, la

remontée des taux d'ensoleillement en 2014-2015 (équivalents à ceux de 2010-2011) n'est pas suivie d'une diminution équivalente de la prévalence de l'hypovitaminose : 66 % et 30 % (pour les niveaux < 75 nmol/l et < 50 nmol/l) en 2014 et 2015 (surtout par rapport à 2010).

- Dans notre région (latitude 44°N) l'insuffisance modérée est plus répandue (35% entre 50 et 74 nmol/l) que l'insuffisance sévère (27% entre 25 et 54 nmol/l). De même la fréquence du statut optimal (> 75 nmol/l) se situe entre la fréquence de l'insuffisance modérée et celle de l'insuffisance sévère (Tableau et Diagramme 34). Cependant pour les femmes la part de l'insuffisance modérée est voisine de celle du statut optimal alors que pour les hommes la suffisance est bien inférieure à l'insuffisance modérée et sévère. Enfin environ 2 % de notre population se trouve au-dessus du seuil de 150 nmol/l (60 ng/ml). Cette valeur seuil est considérée comme la valeur à ne pas dépasser pour éviter certains effets négatifs observés dans les études sur les relations entre taux de 25(OH)D et risque de chute ou de survenue de certains cancers ou de symptômes cardiovasculaires, tout en restant éloignée des concentrations toxiques. Seuls 14 prélèvements présentent des taux supérieurs à 375 nmol qui est le seuil de toxicité fixé par le GRIO (124). Ces valeurs élevées sont probablement dues à des excès de supplémentation au vu de l'âge des patients concernés (entre 52 et 90 ans) ; 30% de ces patients sont suivis par des rhumatologues.

- Le taux de carence globale de 4,6 % est à moduler en fonction des saisons : il passe de 8,9 % en hiver à 1,8 % en été (Tableau et Diagramme 35). Toutes les tranches du statut vitaminique D sont influencées par le phénomène saisonnier. L'insuffisance modérée présente le moins de variation (5 points d'écart contre 18 pour le statut optimal, 17 points d'écart pour l'insuffisance sévère mais dans des proportions inversées entre ces deux derniers statuts). Ces variations sont beaucoup plus marquées chez les hommes (Tableau et Diagramme 36). Ainsi on peut observer pour ceux-ci des variations allant de 21 à 45 % (24 points d'écart) entre été et hiver pour l'insuffisance sévère (contre 14 points d'écart chez les femmes, soit de 19 à 33 %) et de 15 à 36 % en suffisance, soit 21 points d'écart contre 18 points chez les femmes (de 23 à 41 %). L'hypovitaminose D (< 75 nmol/l) chez les hommes diminue de 34 % entre hiver et été.

En résumé, la prévalence de l'insuffisance en vitamine D (< 75 nmol/l) de notre population est de 66 %, celle de l'insuffisance sévère (< 50 nmol/l) de 31 % et celle de la carence de 4,6 % ce qui est en-dessous de la prévalence nationale mais conforme aux régions d'ensoleillement similaires au Marmandais comme nous allons le voir par la suite.

2.2.2.3 Comparaison avec l'étude ENNS 2006

Les résultats de l'étude ENNS 2006-2007 ont été présentés sous différentes formes selon les époques et selon les auteurs. Cette étude a été réalisée sur une population adulte âgée de 18 à 74 ans découpée en trois tranches d'âge : 18-29 ans, 30-54 ans et 55-74 ans. En fonction des seuils de concentration en 25(OH)D choisis pour qualifier le déficit vitaminique, nous avons sélectionné trois présentations originales pour la comparaison avec les valeurs de notre population limitée aux mêmes tranches d'âge :

- celle du Programme National nutrition santé (PNNS)
- celle de la DREES (Direction de la Recherche, des études, de l'évaluation et des statistiques, Ed 2015)
- celle du Bulletin Epidémiologique hebdomadaire 2012 (BEH)

Bien que les critères d'inclusion des populations ne soient pas identiques entre l'étude ENNS 2006 et notre étude, nous avons relevé les différents pourcentages d'hypovitaminose D pour analyse en sélectionnant dans notre population des tranches d'âge identiques.

→ **Présentation des données de prévalence selon le PNNS 2006 - 2010 (134)**

Tableau 37		Répartition selon les seuils de l'ENNS 2006 (%)			
25(OH)D nmol/l	< 12,5	12,5-24	25-49	≥ 50	
18-74 ans	0,09	3,07	25,08	71,76	
H 18-74 ans	0,07	2,89	28,67	68,36	
F 18-74 ans	0,09	3,12	24,15	72,64	

Tableau 38	Répartition selon les seuils de l'ENNS 2006 : hommes par tranche d'âge (%)				Tableau 39	Répartition selon les seuils de l'ENNS 2006 : femmes par tranche d'âge (%)			
	25(OH)D nmol/l	< 12,5	12,5-24	25-49		≥ 50 nmol/l	25(OH)D nmol/l	< 12,5	12,5-24
18-29 ans	0,00	2,91	25,73	71,36	18-29 ans	0,00	3,60	28,67	67,73
30-54 ans	0,07	3,14	28,24	68,56	30-54 ans	0,04	3,98	27,78	68,20
55-74 ans	0,08	2,80	28,99	68,13	55-74 ans	0,12	2,64	21,95	75,28

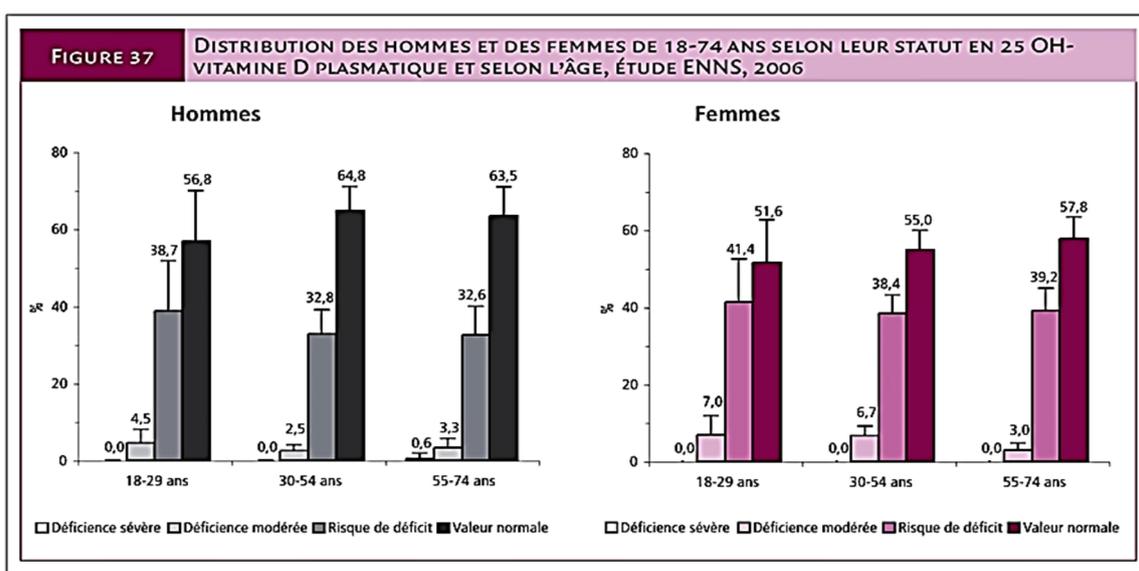
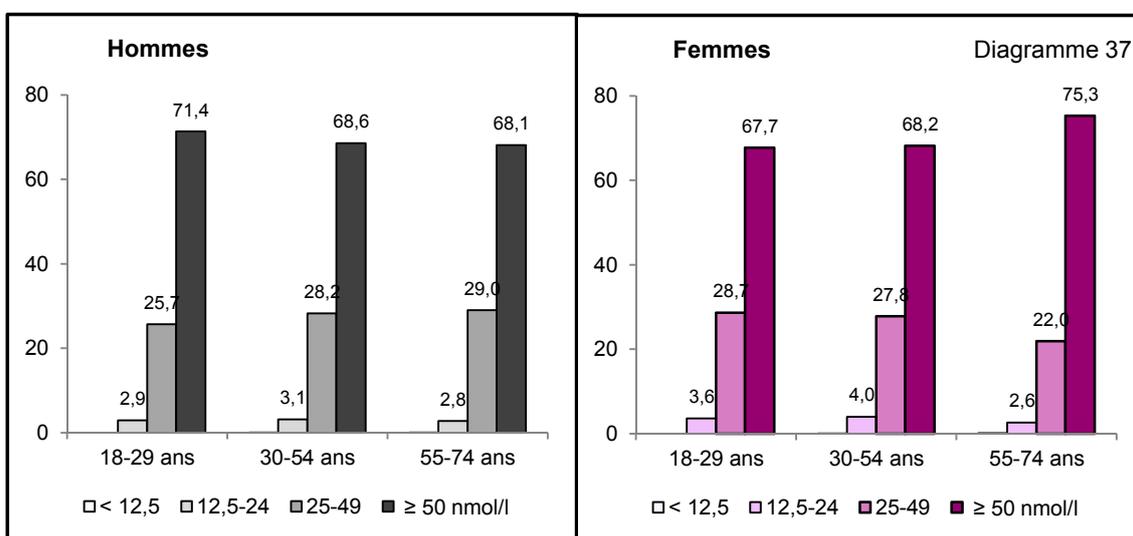


Diagramme 38 : source PNNS

Les seuils choisis pour cette étude étaient les suivants :

- déficit sévère : < 5 ng/ml soit < 12,5 nmol/l
- déficience modérée : entre 5 et 10 ng/ml soit entre 12,5 et 25 nmol/l
- risque de déficit : entre 10 et 20 ng/ml soit 25 et 50 nmol/l
- valeurs normales : ≥ 20 ng/ml soit ≥ 50 nmol/l (d'après Lips 2004)

Nous avons sélectionné dans notre population les tranches d'âge 18-29 ans, 30-54 ans et 55-74 ans, et calculé les fréquences pour les mêmes plages de concentration en 25(OH)D : Tableaux 37, 38 et 39.

- Diagramme 37 : Répartition des statuts vitaminiques D, selon le sexe et l'âge : données Marmandais 2009-2015.
- Diagramme 38 : Répartition des statuts vitaminiques D selon le sexe et l'âge. Etude ENNS 2006 (source PNNS 2006-2010)

Une comparaison des taux obtenus montre que :

- la déficience sévère (< 12,5 nmol/l) est quasi inexistante dans les deux études.
- la déficience modérée (4,4 % dans l'étude ENNS avec 3,3 % chez les hommes et 5,5 % chez les femmes) est plus importante chez les femmes que chez les hommes dans les deux études. Chez nous elle reste < 4 % alors qu'elle atteint 7 % chez les 18-29 ans puis diminue avec l'âge chez les femmes ENNS-2006 (cf Tableau 42).
- le risque de déficit atteint plus d'un tiers des adultes dans l'ENNS-2006 (36,7%) et moins d'un tiers dans notre étude (25%).
- pour les 18-74 ans, les valeurs "normales" représentent entre 60 à 64 % de la population masculine et 51 à 55 % de la population féminine ; chiffres inférieurs aux nôtres (68 et 73 % respectivement).
- chez les hommes, la prévalence du risque de déficit diminue avec l'âge dans l'étude ENNS 2006 ; celle-ci augmente dans notre étude.

→ Présentation des données de prévalence selon la DREES 2015 (179)

Les données de l'ENNS sont reprises ici sous forme de paliers de concentrations en 25(OH)D, comme précédemment, mais avec de nouveaux seuils de concentration : 25, 50 et 75 nmol/l. Le tableau ne porte que sur les différentes tranches d'âge et non sur les différences entre sexe.

Tableau 40	Répartition selon la présentation de la DREES (%)			
25(OH)D nmol/l	< 25 nmol/l	25-50 nmol/l	50-75 nmol/l	≥ 75 nmol/l
18-29 ans	3,5	28,2	35,5	32,9
30-54 ans	3,9	27,9	37,8	30,5
55-74 ans	2,8	23,5	36,4	37,3

Avec ces nouveaux seuils,

- le statut optimal passe d'une prévalence de 58 % au seuil de 50 nmol/l à 20 % au seuil de 75 nmol/l dans l'étude ENNS-2006. Pour notre population, il passe de 72 à 35 %.
- la carence diminue avec l'âge : de 7,5 % à 1,9 % au niveau national. Elle reste < 4 % dans le Marmandais.

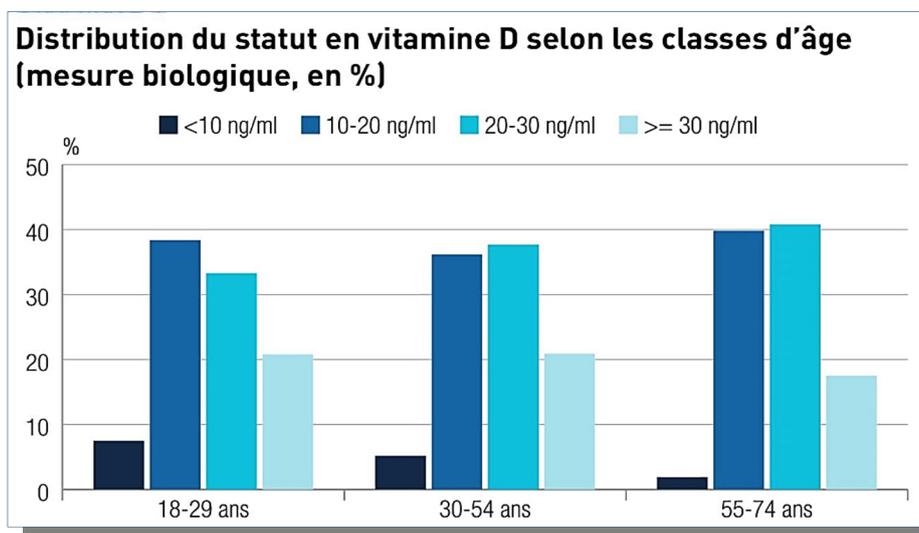
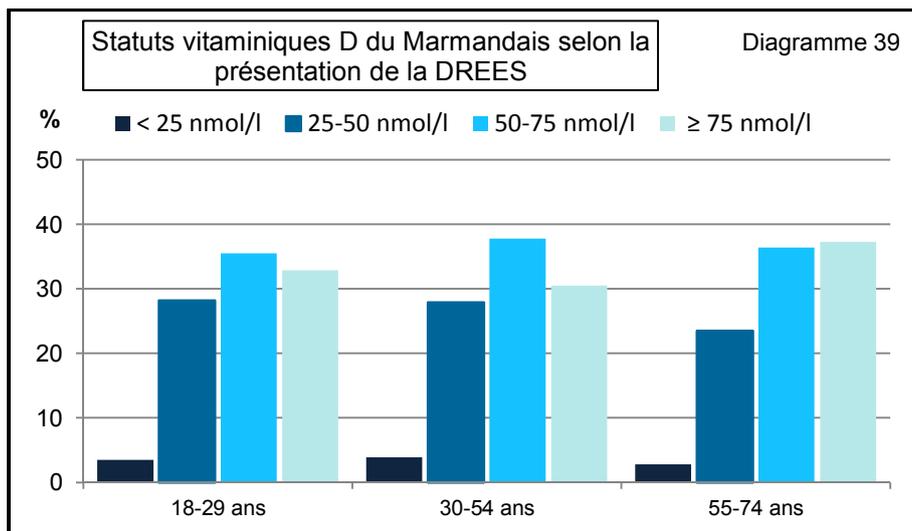


Diagramme 40 : Statut vitaminiques D selon les classes d'âge : source DREES 2015.

➔ Présentation des données de prévalence selon le BEH 2012 (146)

L'étude parue dans le BEH permet de mettre en relation les différents niveaux d'hypovitaminose D avec une localisation géographique (latitude, ensoleillement). La France a été découpée en 4 zones d'ensoleillement décroissant.

Nous avons comparé la zone du Marmandais avec :

- soit la France Métropolitaine (code : FM),
- soit la zone d'ensoleillement N°1 (code 1) bénéficiant d'une durée annuelle moyenne d'ensoleillement ≥ 2100 heures/an,
- soit la zone d'ensoleillement N°2 (code 2) bénéficiant d'une durée annuelle moyenne d'ensoleillement de 1850 -2100 h/an

Le calcul de la moyenne annuelle d'ensoleillement sur le Marmandais entre 2010 et 2015 a été réalisé grâce aux données Météo France de la station météorologique d'Agen La Garenne située à une cinquantaine de km à l'Est du Marmandais (latitude équivalente). Tableau 41.

Notre région, avec 2074 heures d'ensoleillement annuelles, se situe donc entre les zones 1 et 2 et plus précisément dans le quintile supérieur de la zone 2 (à 13,5 % en dessous du seuil des 2100 h/an)

Tableau 41	Nombre d'heures d'ensoleillement
année	heures/an
2010	2032
2011	2166
2012	2079
2013	1931
2014	2049
2015	2185
moyenne	2074

Nous avons reporté dans le Tableau 42 les valeurs du Marmandais et les valeurs relevées dans le BEH 2012 qui sont les valeurs de l'étude ENNS 2006-2007.

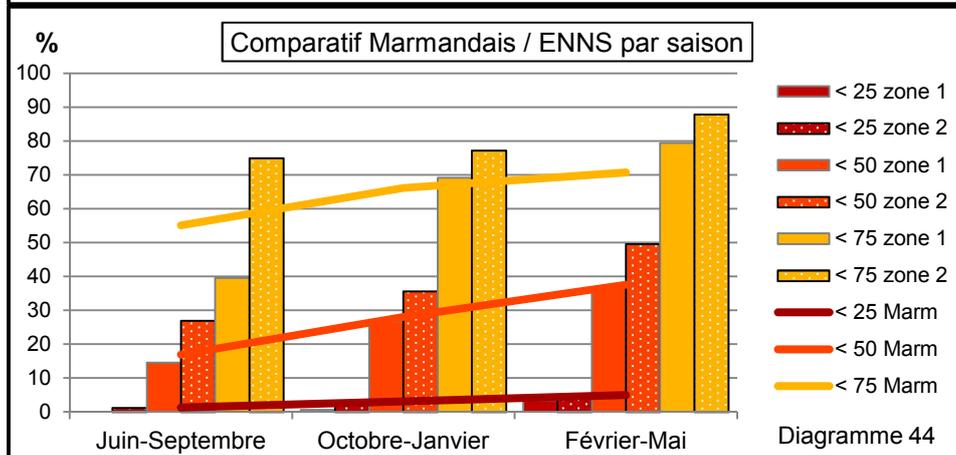
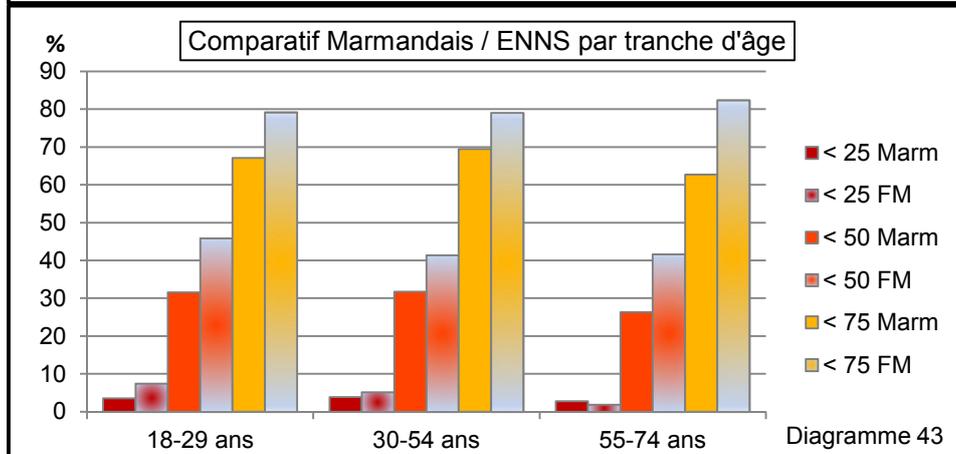
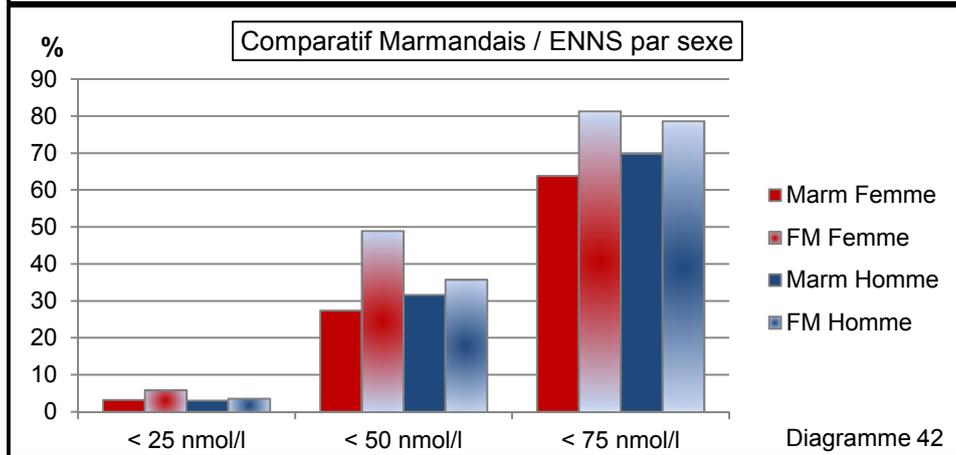
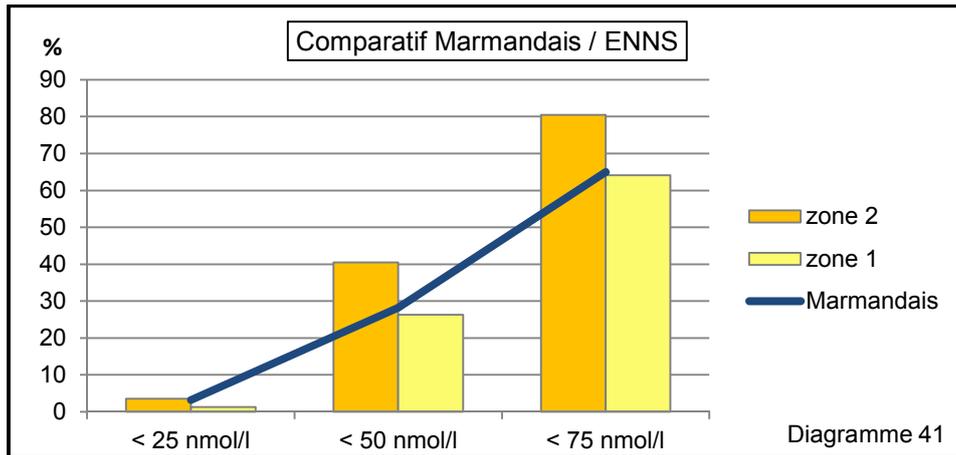
Tableau 42		Comparatif Marmandais 2009-2015 / ENNS 2006-2007								
		Marmandais 2009-2015				BEH : ENNS 2006-2007				
		Moyenne en nmol/l	distribution en %			Moyenne en nmol/l	distribution en %			
			< 25	< 50	< 75		< 25	< 50	< 75	
Sexe	Confondu	68,0	3,2	28,2	65,0	<u>2</u>	57,0	3,5	40,5	80,5
						<u>1</u>	70,5	1,3	26,3	64,1
	Hommes	64,6	3,0	31,6	69,8	FM	60,0	3,6	35,8	78,7
	Femmes	68,9	3,2	27,4	63,8	FM	55,0	5,9	49,0	81,4
Age	18-29 ans	66,1	3,5	31,6	67,1	FM	57,5	7,5	45,9	79,2
	30-54 ans	64,9	3,9	31,7	69,5	FM	57,5	5,2	41,4	79,1
	55-74 ans	69,6	2,8	26,3	62,7	FM	57,5	1,9	41,7	82,4
Période de prélèvement	Juin-Septembre	74,9	1,2	16,9	55,1	<u>2</u>	63,5	1,2	27,0	75,0
	Octobre-Janvier	67,2	3,0	28,0	66,1	<u>2</u>	59,0	3,0	35,7	77,2
	Février-Mai	62,5	5,0	38,7	72,8	<u>2</u>	52,8	4,9	49,6	87,9
Période de prélèvement	Juin-Septembre					<u>1</u>	84,8	0,0	14,5	39,5
	Octobre-Janvier					<u>1</u>	70,8	0,6	26,7	69,1
	Février-Mai					<u>1</u>	57,0	3,4	36,7	79,4

Dans le BEH, les distributions sont présentées par séquences de "valeurs inférieures au seuil de... ". Il s'agit des mêmes seuils réactualisés qui ont servi de base dans la présentation de la DREES.

Le BEH a opté pour la dénomination suivante :

- "insuffisance en vitamine D" : concentrations < 75 nmol/l
- "déficit sévère à modéré" : concentrations < 50 nmol/l :
- "déficit sévère" : concentrations < 25 nmol/l

Dans le Marmandais, pour la tranche d'âge 18-74 ans, le déficit sévère (carence) en vitamine D représente 3,2 %, le déficit sévère à modéré 28 % et l'insuffisance 65 %. Ces taux étaient respectivement de 4,6 %, 31 % et 66 % pour la population entière de notre étude (tout âge confondu) (Tableau 27).



- le Diagramme 41 représente les différents niveaux d'hypovitaminose D du Marmandais ainsi que ceux des deux zones d'ensoleillement proche du Marmandais.
- le Diagramme 42 reprend les mêmes niveaux d'hypovitaminose D mais au niveau national (FM) et par sexe.
- le Diagramme 43 décrit ces niveaux d'insuffisance en vitamine D par tranches d'âge pour un comparatif Marmandais (Marm)/ France Métropolitaine (FM).
- le Diagramme 44 représente en fonction des saisons la prévalence des différents niveaux d'hypovitaminose D des zones **1** et **2** d'ensoleillement (en colonnes). Les valeurs du Marmandais sont représentées par des courbes.

Discussion sur la comparaison avec d'autres études

La comparaison avec d'autres études va nous permettre d'illustrer l'influence de la détermination des seuils ainsi que celle de l'ensoleillement sur la prévalence de l'hypovitaminose D. Consciente que l'échantillonnage des populations n'est pas identique dans les différentes études, il nous a semblé tout de même intéressant de comparer les résultats de notre étude avec l'enquête ENNS

a) La dernière étude réalisée en France, la plus complète sur le statut vitaminique D de la population globale française, date de 2006. Sous l'égide de l'INVS (Institut National de Veille Sanitaire), **l'ENNS-2006** a rendu ses résultats en 2007 et ceux-ci, supervisés par Michel Vernay, ont été repris sous diverses formes. Trois présentations ont retenu notre attention : celle du PNNS 2006-2010 (134), celle de la DREES (Ed 2015) (179) et celle du BEH du 24 avril 2012 (146).

L'ENNS 2006-2007 regroupe entre autres les données de 25(OH)D de février 2006 à février 2007 d'adultes âgés de 18 à 74 ans vivant en France métropolitaine non supplémentés en vitamine D.

▫ Dans la première, le PNNS reprend les valeurs des dosages effectués sur 2102 adultes avec des seuils de l'hypovitaminose D définis par des normes préconisées par Lips en 2004:

- la prévalence des déficiences sévères (< 12,5 nmol/l soit < 5 ng/ml) était quasi nulle : nos résultats sont identiques (Tableau 37, Diagrammes 37 et 38)

- la prévalence des déficiences modérées (entre 12,5 et 24 nmol/l soit entre 5 et 10 ng/ml) s'élevait à 4,4 %, avec 3,3 % chez les hommes et 5,5 % chez les femmes. Nos chiffres sont plus bas avec 3,1 % tout sexe confondu et inversés dans les rapports homme/femme : 2,9 % chez les hommes et 3,1 % chez les femmes.

- la prévalence du risque de déficit (entre 25 et 50 nmol/l soit entre 10 et 20 ng/ml) était de 36,7 %, avec 33,7 % chez les hommes et 39,6 % chez les femmes. Dans notre population le "risque de déficit" s'élève à 25,1 %, avec 28,7 % chez les hommes et 24,1 % chez les femmes, donc bien inférieur à celui de l'ENNS-2006 (une partie de notre population est supplémentée contrairement à celle de l'ENNS).

- le découpage en trois tranches d'âge donne des valeurs de déficit qui diminuent avec l'âge (déficience modérée et risque de déficit, chez les hommes et chez les femmes) dans le PNNS. Il a été conclu à l'absence de différence statistiquement significative selon le sexe et l'âge entre les 3 classes de 18 et 74 ans. Ce n'est pas le cas dans notre étude où le risque de déficit augmente légèrement avec l'âge et chez les hommes uniquement. Dans l'étude du PNNS, les écarts entre statut normal et risque de déficit sont davantage marqués chez les hommes que chez les femmes et se creusent avec l'âge quel que soit le sexe, alors que dans notre population, les écarts s'amenuisent chez les hommes en avançant en âge, et ils augmentent chez les femmes. Ceci est probablement dû au fait que dans notre population

(surtout féminine) sont inclus des patients supplémentés. Ceci se retrouve dans le pourcentage élevé de valeurs "normales" dans la tranche 55-74 ans (75 % dans notre population "Femmes" contre 58% dans l'ENNS).

▫ Les résultats publiés par la DREES 2015 (179) sont ordonnés de la même façon que dans la présentation du PNNS-2006, c'est-à-dire par paliers de concentration en 25(OH)D, mais avec des seuils d'hypovitaminose D réactualisés : < 25, 25-50 et 50-75 nmol/l. Tableau 40, Diagramme 40.

- l'état de carence (< 25 nmol/l) se situe à 4,8 % de la population adulte et diminue avec l'âge : 7,5 %, 5,2 % et 1,9 % respectivement dans les trois classes d'âge étudiées (Tableau 42). Il reste < 4 % chez nous et diminue uniquement chez les 55-74 ans. Diagramme 39.

- l'insuffisance sévère (25-50 nmol/l) se situe entre 36 et 40 % au niveau national (et correspond à la prévalence de la déficience modérée du PNNS). Elle reste en dessous des 30 % chez nous.

- l'insuffisance modérée (50-75 nmol/l) varie de 32 à 41 % et augmente avec l'âge au niveau national. Elle reste autour des 36 % dans notre étude quel que soit l'âge.

- la prévalence du statut optimal passe de 58 à 20 % entre les données du PNNS et de la DREES à cause du changement de seuil. Pour notre population ceci engendre une diminution de 72 % à 35 %.

▫ L'étude publiée dans le BEH regroupe les données en 25(OH)D de 1587 sujets (974 femmes et 613 hommes) non supplémentés de l'étude ENNS-2006. Les données globales de cette étude montrent qu'environ 80 % des participants présentent une insuffisance en vitamine D (25(OH)D < 75 nmol/l) et presque la moitié (42,5%) un taux < 50 nmol/l ; 4,8 % présentent un déficit sévère (< 25 nmol/l). Nous avons comparé nos valeurs soit avec celles de France métropolitaine soit avec celles des deux zones de niveau d'ensoleillement encadrant celui du Marmandais (zone 1 et zone 2) (Tableaux 41, 42). Les seuils d'hypovitaminoses D sont : < 10, 20 et 30 ng/ml soit < 25, 50 et 75 nmol/l, déterminés selon la Société américaine d'endocrinologie (115), et ne sont plus présentés par paliers de valeurs.

- Que ce soit la moyenne, l'insuffisance sévère ou modérée, la prévalence dans le Marmandais, pour chacune des catégories, s'accorde avec celle observée dans l'ENNS en appliquant le rapport de 13,5 % en dessous des seuils de la zone 1 : par exemple, avec ce rapport nous obtenons une moyenne en 25(OH)D de 68,4 nmol/l entre zone 1 et 2, soit notre moyenne de 68 nmol/l. Par contre, la carence dans le Marmandais se rapproche des valeurs de la zone 2 (Tableau 42, Diagramme 41).

- Les distributions varient de manière significative selon le sexe, l'âge (sauf pour la moyenne de 57,5 nmol/l) et la date du prélèvement dans cette analyse du BEH.

- selon le sexe : les chiffres de France métropolitaine (FM) sont reportés dans le Diagramme 42. En comparant ces données avec celles de notre population, hormis l'état de carence, une relation inverse entre homme/femme se retrouve dans les moyennes et les insuffisances sévères et modérées (5 points d'écart pour les moyennes, mais en plus pour les femmes dans le Marmandais). On retrouve des écarts importants entre les valeurs : par exemple, chez les femmes, l'hypovitaminose D < 75 nmol/l est de 81 % (ENNS) contre 64 % chez nous, soit 17 points d'écart; l'hypovitaminose D < 50 nmol/l est de 49 % contre 27 % chez nous, soit 22 points d'écart. La prévalence de la carence varie en fonction du sexe en FM (3,6 % chez les hommes et 5,9 % chez les femmes), contrairement au Marmandais (environ 3% quel que soit le sexe).

- - selon les différentes classes d'âge : pour la situation de carence, on observe une diminution significative avec l'âge en FM (5,6 points d'écart) alors que chez nous il y a peu de variation (1,1 point d'écart). Dans les autres situations d'hypovitaminoses D (< 50 ou < 75 nmol/l) les rapports sont à peu près respectés sauf pour la dernière tranche d'âge où la supplémentation de notre population fait baisser la prévalence de l'hypovitaminose D (Diagramme 43). La concentration moyenne en FM varie de manière significative selon le sexe, mais pas selon l'âge (57,5 nmol/l) contrairement à notre étude (de 65 à 70 nmol/l).

- - selon les saisons : le statut vitaminique D est étroitement lié à la période de mesure. Ainsi, le pourcentage de personnes en situation de carence varie de 1,2 % (période juin-septembre) à 5 % sur la période février-mai (moment où les réserves sont les plus faibles) dans le Marmandais. Ce phénomène apparaît constant quel que soit la région et quel que soit le seuil d'hypovitaminose D.

La comparaison entre notre région et les zones 1 et 2 du BEH place notre moyenne estivale (74,9 nmol/l) à mi-valeurs de celle des deux zones en été, plus proche de la zone 1 en hiver (67,2 nmol/l) et au-dessus de la zone 1 au printemps (Février-Mai : 62,5 nmol/l pour 57 nmol/l dans la zone 1). La prévalence de la carence est équivalente à celle de la zone 2, celle de l'insuffisance sévère proche de la zone 1 et celle de l'insuffisance modérée dépend des saisons : proche de la zone 1 en hiver, plus faible que dans les deux zones au printemps et entre les deux zones l'été. Ces variations sont peut-être dues à une supplémentation en vitamine D plus soutenue durant les mois d'hiver dans notre population. (Diagramme 44).

Les écarts entre le Marmandais et la France métropolitaine sont assez importants. En fait pour une même latitude les taux de prévalence de l'hypovitaminose D varient significativement d'une région très ensoleillée, comme la région 1 dans l'Est de la France, à une région "assez" ensoleillée comme la région 2 dans la partie ouest de la France.

b) autres exemples d'études

- Chapuy 1997 (145) : les données provenaient de l'étude SU.VI.MAX réalisée chez des adultes (35-65 ans), volontaires, en bonne santé, non supplémentés et résidant principalement en milieu urbain (20 villes différentes dans des latitudes variant de 43 à 51 degrés et regroupées en 9 régions). Les données ont été collectées entre novembre 1994 et avril 1995 (pour des taux de 25(OH)D supposés au plus bas).

Résultats : sur 1569 français en bonne santé (765 hommes et 804 femmes), 14 % avaient un taux de 25(OH)D ≤ 30 nmol/l (≤ 12 ng/ml) durant l'hiver 1997 et 75 % des sujets (74 % d'hommes et 78 % de femmes) avaient une concentration sérique de 25(OH)D ≤ 31 ng/ml (78 nmol/l) (soit 78 % un taux < 75 nmol/l). Un gradient Nord/Sud était significatif : dans le Nord (latitude : 50°N, moyenne en 25(OH)D : 43 nmol/l), 29% des personnes étaient carencées (< 12 ng/ml), dans le Nord-Est 18% et 0% dans le Sud-Ouest de la France (dont la moyenne était de 94 nmol/l). Mais aucune corrélation n'est possible avec les autres études (seuils et populations différents, méthode de mesure : RIA).

- Cavalier 2006 (147) : l'étude a été réalisée à Liège, latitude 50°N, et montrait que plus de 40 % de la population était en état de carence (< 30 nmol/l) en janvier-février et cette prévalence passait en dessous de 20 % en été (Août, Septembre et Octobre). Par contre ce même été seulement 25 % de la population liégeoise présentait un statut vitaminique normal (> 75 nmol/l). Pour une latitude similaire en France, dans le Nord-Pas-de-Calais (latitude 50°N et ensoleillement < 1650 h/an), le BEH nous indique une carence (< 25 nmol/l) de 10,2 % de la population en hiver et de 2,9 % en été. La proportion de sujets en statut optimal l'été est de 32 %. La latitude est un facteur important mais n'explique pas toutes les variations (par exemple, entre les deux études on a même latitude, même année, mais l'âge des populations est différent ainsi que le seuil de carence).

- De nombreuses études portant sur des populations différentes montrent un niveau inquiétant de la prévalence de l'hypovitaminose D : chez les adolescents et les jeunes adultes (Roth, Gordon), chez les hommes adultes (Dupraz 2011), chez la population féminine entre 20 et 50 ans, notamment celle portant des vêtements couvrants (Contardo, Belaïd, Le Goaziou), chez les femmes âgées ostéopéniques ou ostéoporotiques (De Cock, Bruyère (148), Lips), dans la population âgée de plus de 65 ans et plus particulièrement vivant en institution (Fardellone 1995 (144), Sadeg, Souberbielle étude DHEAge, Boüuaert), chez les insuffisants rénaux ou transplantés (Sadlier, Le Fur, Barreto). De nombreuses études insistent sur l'importance de l'insuffisance chez les sujets âgés en mauvais état de santé et chez les patients hospitalisés où le taux de prévalence atteint 80 à 100 % selon les auteurs (Simonelli, Annweiler (149), Thomas, Crétel, Schmidlin (150), Bischoff-Ferrari 2010).

2.3. Evolution de la demande des dosages de vitamine D

→ évolution du nombre d'analyses par année et par sexe de 2010 à 2015

Nous avons recensé à partir de 2010 le nombre de dosages de 25(OH)D effectués sur tous les sites tout sexe confondu puis par sexe. Tableau 43 et Diagrammes 46 et 47. Nous avons également reporté dans ce tableau le pourcentage de variation des demandes de 25(OH)D et celui du nombre total de bilans.

Tableau 43	Nombre d'analyses par année et par sexe et pourcentage de variation					
	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Tout sexe	3 468	5 316	7 583	9 326	7 747	4 892
<i>variation %</i>		53,3	42,6	23,0	- 20,4	- 58,4
Femmes	2 830	4 229	6 049	7 198	5 968	3 531
<i>F variation %</i>		49,4	43,0	19,0	- 20,6	- 69,0
Hommes	638	1 087	1 534	2 128	1 779	1 361
<i>H variation %</i>		70,4	41,1	38,7	- 19,6	- 30,7
dossiers	122 565	125 983	134 655	133 510	133 447	130 372
<i>var dossiers %</i>		2,8	6,9	- 0,9	0,0	- 2,4

Le Diagramme 45 nous permet de visualiser l'augmentation des demandes au niveau national.

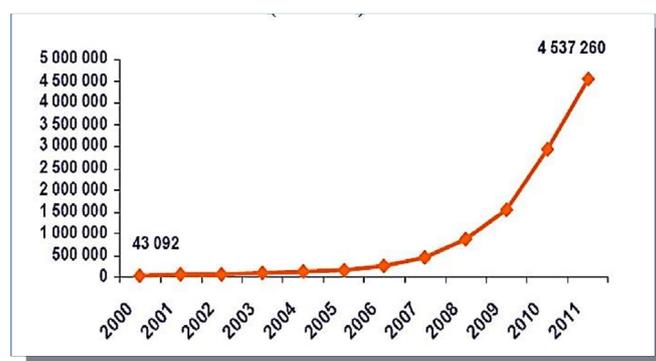
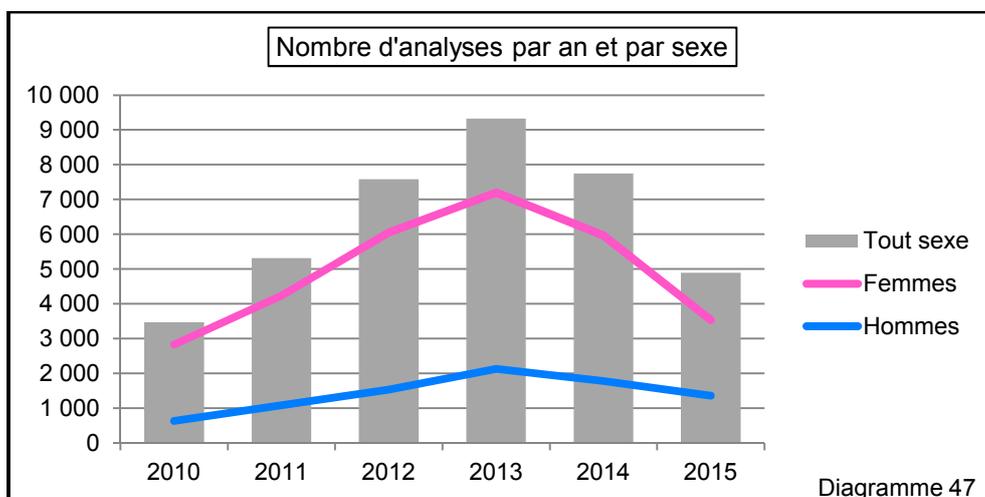
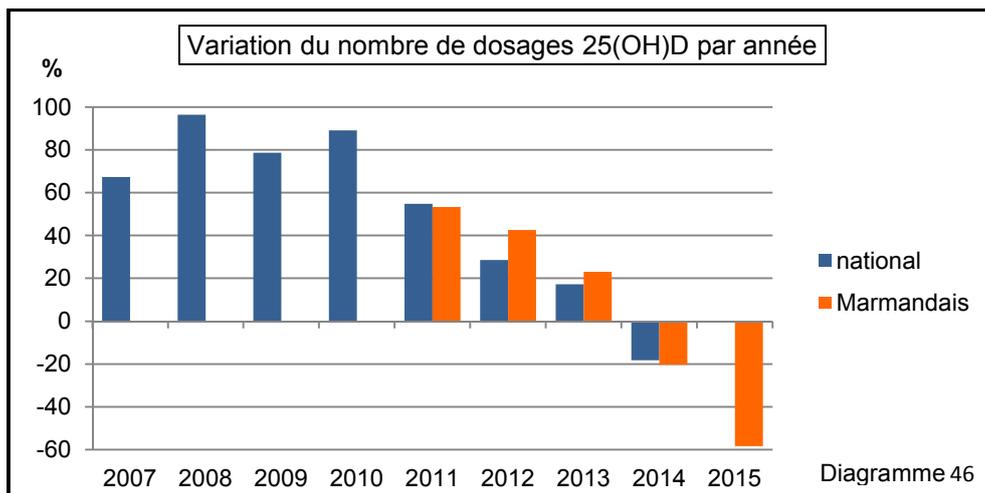
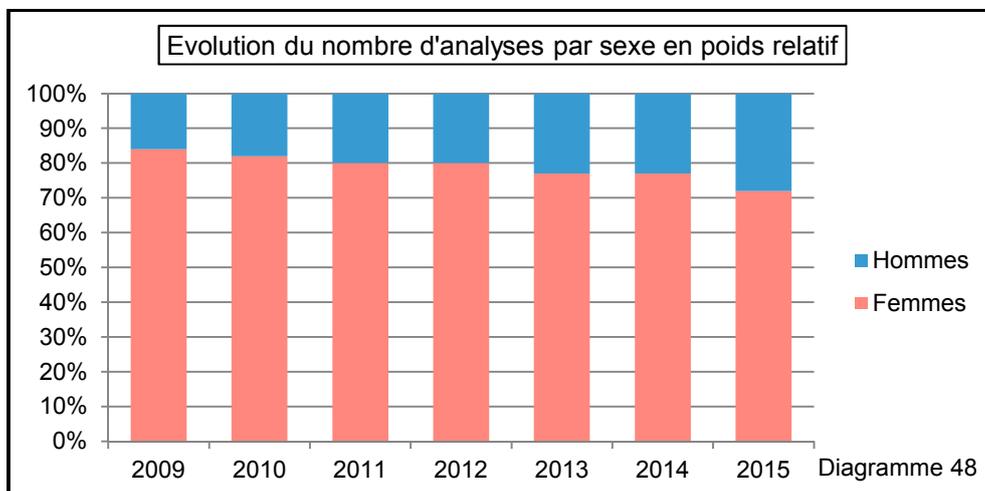


Diagramme 45 : Evolution du dosage en nombre d'actes au niveau national (source CNAMTS)



On note une augmentation linéaire pour les deux sexes de 2010 à 2013, puis les chiffres diminuent avec une décroissance plus marquée chez les femmes. Celle-ci a pu être quantifiée en pourcentage dans le Tableau 44 et visualisée dans le Diagramme 48.

Tableau 44	Evolution du nombre d'analyses homme/femme en poids relatif						
	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Femmes	84	82	80	80	77	77	72
Hommes	16	18	20	20	23	23	28

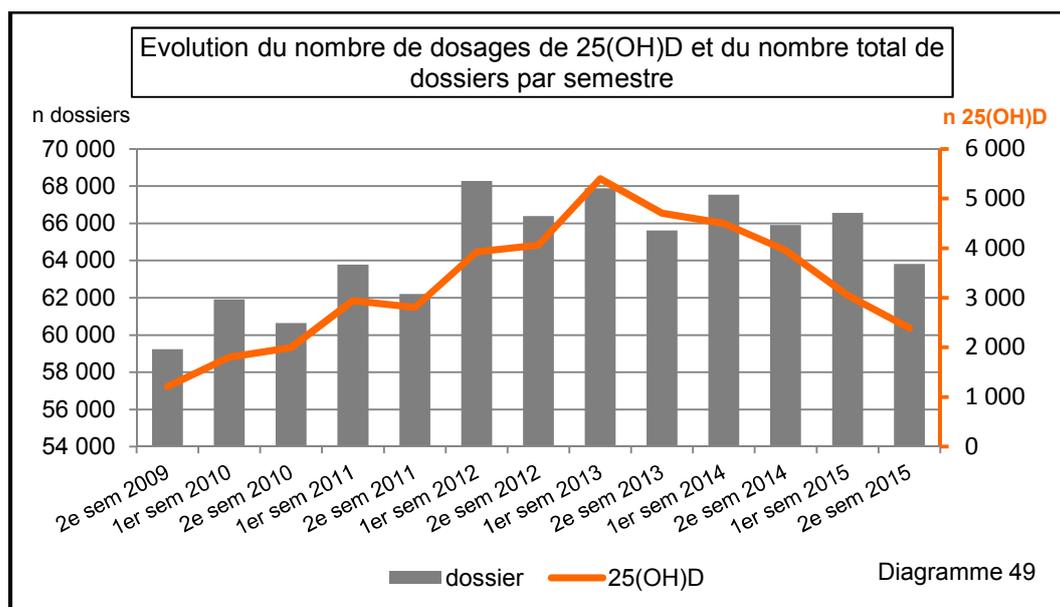


→ évolution du nombre d'analyses de 25(OH)D par semestre

Nous avons calculé le pourcentage d'analyses de 25(OH)D par rapport au nombre de bilans réalisés dans la même période (par semestre) sur l'ensemble des sites. Tableau 45, Diagramme 49.

Tableau 45	Evolution du nombre de dosages de 25(OH)D par rapport au nombre de dossiers par semestre			
	semestre	dossier	25(OH)D	%
	2 ^e sem 2009	59 231	1 214	2,05
	1 ^{er} sem 2010	61 921	1 806	2,92
	2 ^e sem 2010	60 644	1 999	3,30
	1 ^{er} sem 2011	63 776	2 944	4,62
	2 ^e sem 2011	62 207	2 805	4,51
	1 ^{er} sem 2012	68 270	3 929	5,76
	2 ^e sem 2012	66 385	4 063	6,12
	1 ^{er} sem 2013	67 890	5 402	7,96
	2 ^e sem 2013	65 620	4 705	7,17
	1 ^{er} sem 2014	67 538	4 499	6,66
	2 ^e sem 2014	65 909	3 959	6,01
	1 ^{er} sem 2015	66 559	3 051	4,58
	2 ^e sem 2015	63 813	2 386	3,74

Si le nombre de bilans a augmenté jusqu'en 2012, l'ascension de la courbe des demandes de 25(OH)D progresse dans la même période de manière plus importante. En 2009 la demande de 25(OH)D représentait 2 % des bilans et au 1^{er} semestre 2013 ce taux passe à 8 %. A partir du 2^e semestre 2013 la baisse des demandes de 25(OH)D est bien plus importante que la baisse du nombre de bilans (- 90 % pour la 25(OH)D contre - 4,7 % pour les dossiers entre 2013 et 2015).



→ évolution du nombre d'analyses par tranche d'âge

Le Tableau 46 regroupe les fréquences par tranche d'âge du nombre de dosages prescrits chez les femmes par année, puis leurs pourcentages dans le Tableau 47 (Diagramme 50 et 52). Les mêmes relevés ont été réalisés pour les hommes : Tableaux 48 et 49 ; Diagrammes 51 et 53.

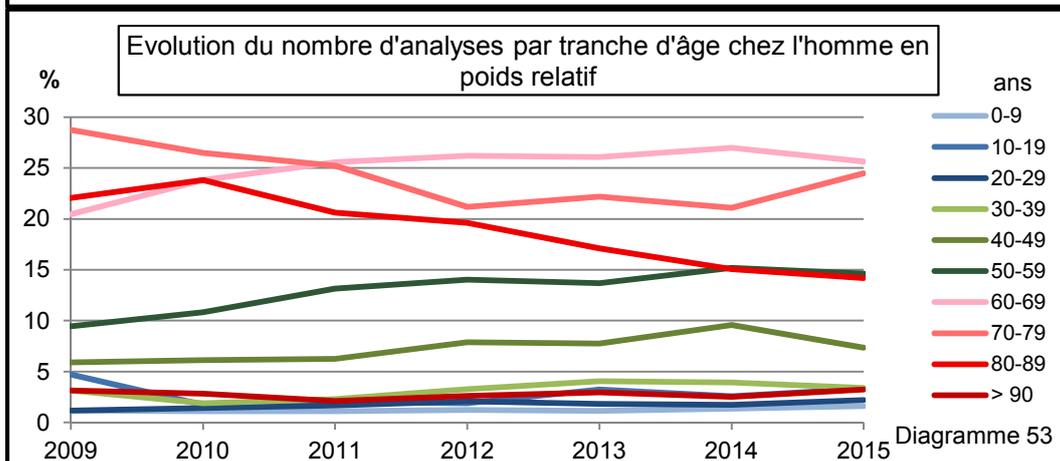
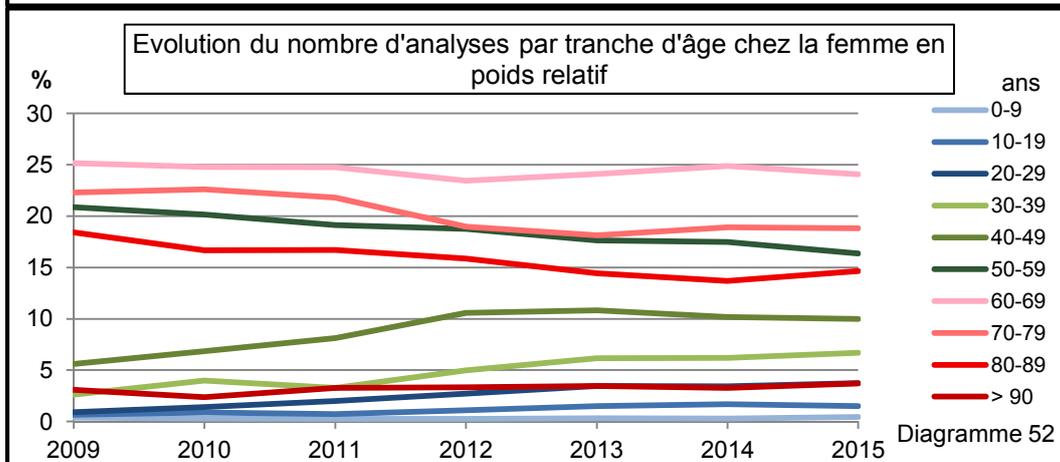
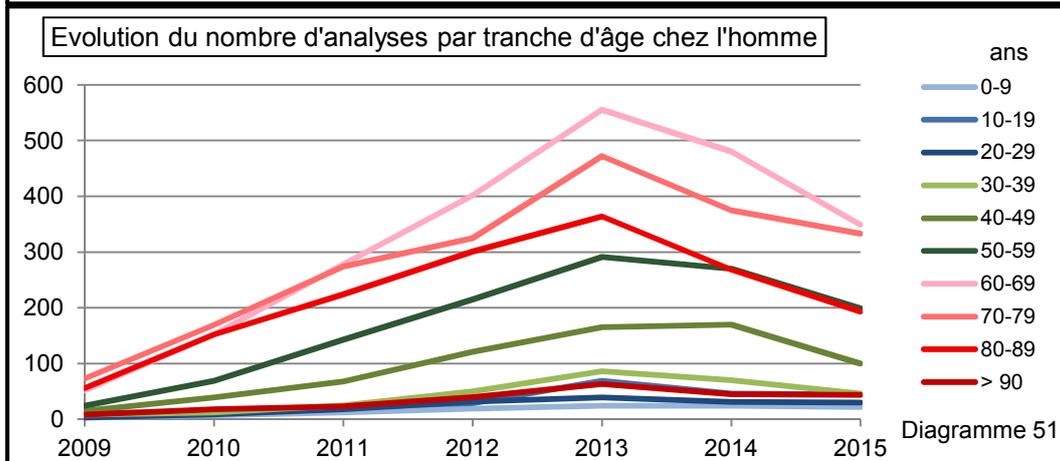
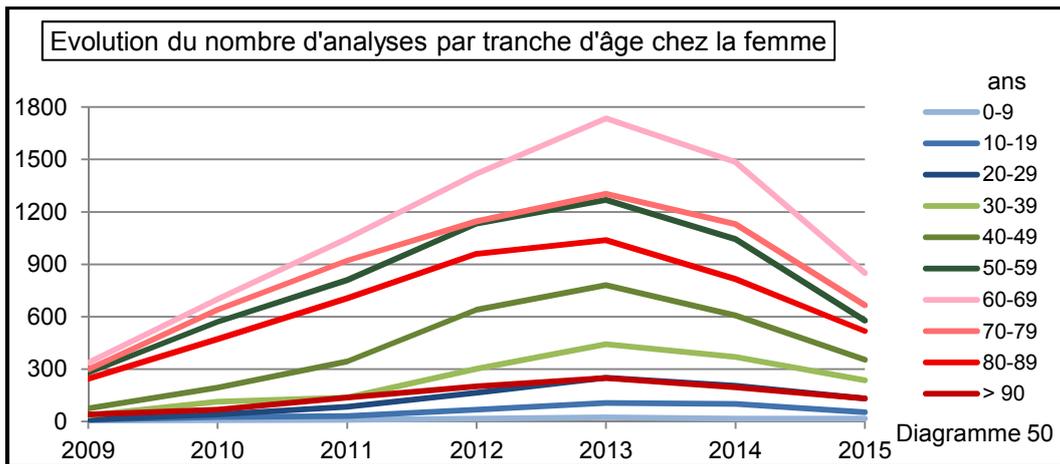
La même démarche est réalisée avec le nombre de demandes par spécialité de prescripteur : Tableaux 50 et 51 ; Diagrammes 54 et 55.

Tableau 46										
Nombre d'analyses par tranche d'âge et par année chez les femmes										
ans	0-9	10-19	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	80-89	> 90
2009	5	9	12	35	75	279	336	298	246	41
2010	8	25	40	113	194	570	701	640	472	67
2011	10	31	84	138	344	809	1047	922	706	138
2012	16	67	164	302	640	1134	1419	1147	959	201
2013	24	107	250	443	780	1269	1735	1304	1038	248
2014	17	101	205	370	607	1044	1484	1129	816	195
2015	16	53	132	236	353	578	850	665	517	131

Tableau 47										
Nombre d'analyses par tranche d'âge et par année chez les femmes en poids relatif (%)										
ans	0-9	10-19	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	80-89	> 90
2009	0,37	0,67	0,90	2,62	5,61	20,88	25,15	22,31	18,41	3,07
2010	0,28	0,88	1,41	3,99	6,86	20,14	24,77	22,61	16,68	2,37
2011	0,24	0,73	1,99	3,26	8,13	19,13	24,76	21,80	16,69	3,26
2012	0,26	1,11	2,71	4,99	10,58	18,75	23,46	18,96	15,85	3,32
2013	0,33	1,49	3,47	6,15	10,84	17,63	24,10	18,12	14,42	3,45
2014	0,28	1,69	3,43	6,20	10,17	17,49	24,87	18,92	13,67	3,27
2015	0,45	1,50	3,74	6,68	10,00	16,37	24,07	18,83	14,64	3,71

Tableau 48										
Nombre d'analyses par tranche d'âge et par année chez les hommes										
ans	0-9	10-19	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	80-89	> 90
2009	3	12	3	8	15	24	52	73	56	8
2010	7	11	9	12	39	69	152	169	152	18
2011	12	22	18	25	68	143	278	274	224	23
2012	19	29	32	50	121	215	402	325	301	40
2013	24	69	39	86	165	291	555	472	364	63
2014	24	46	31	70	170	270	480	375	268	45
2015	22	45	30	46	100	199	349	333	193	44

Tableau 49										
Nombre d'analyses par tranche d'âge et par année chez les hommes en poids relatif (%)										
ans	0-9	10-19	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	80-89	> 90
2009	1,18	4,72	1,18	3,15	5,91	9,45	20,47	28,74	22,05	3,15
2010	1,10	1,72	1,41	1,88	6,11	10,82	23,82	26,49	23,82	2,82
2011	1,10	2,02	1,66	2,30	6,26	13,16	25,57	25,21	20,61	2,12
2012	1,24	1,89	2,09	3,26	7,89	14,02	26,21	21,19	19,62	2,61
2013	1,13	3,24	1,83	4,04	7,75	13,67	26,08	22,18	17,11	2,96
2014	1,35	2,59	1,74	3,93	9,56	15,18	26,98	21,08	15,06	2,53
2015	1,62	3,31	2,20	3,38	7,35	14,62	25,64	24,47	14,18	3,23

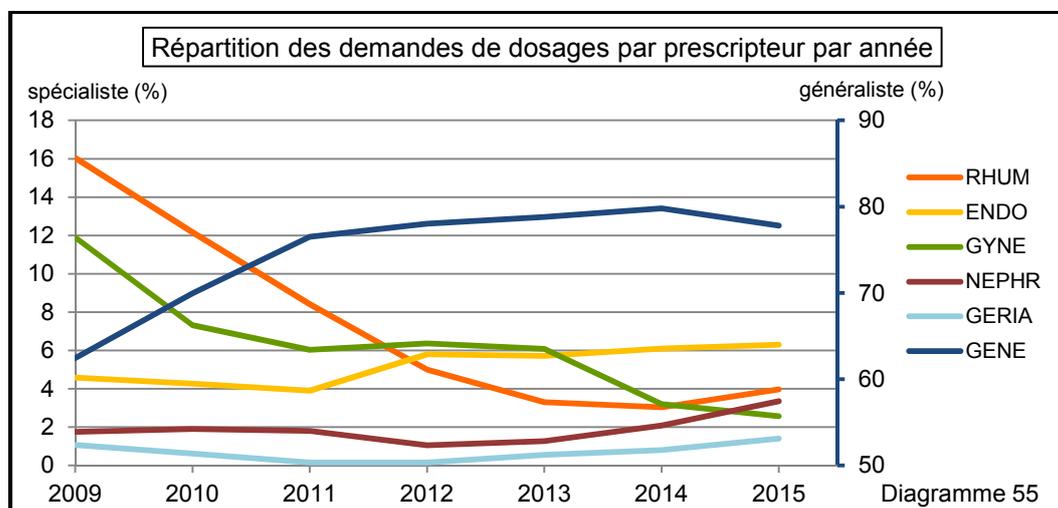
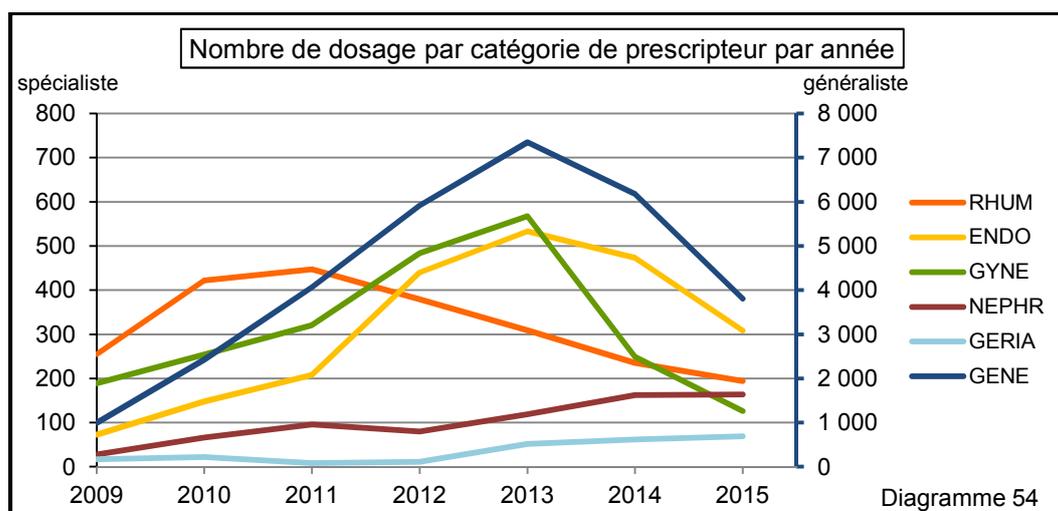


→ évolution des demandes par prescripteur

Nous avons repris les principales catégories de prescripteurs. Les fréquences des demandes sont répertoriées dans le Tableau 50 et Diagramme 54 et les pourcentages de ces valeurs dans le Tableau 51 et Diagramme 55.

	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	Total
GENE	993	2 426	4 067	5 918	7 351	6 181	3 807	30 743
RHUM	255	422	447	379	309	235	194	2 241
ENDO	73	148	208	440	533	473	308	2 183
GYNE	189	254	321	483	567	249	126	2 189
NEPHR	28	66	96	80	119	162	164	715
GERIA	17	22	8	11	52	62	69	241

	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
GENE	62,45	69,95	76,50	78,04	78,82	79,79	77,82
RHUM	16,04	12,17	8,41	5,00	3,31	3,03	3,97
ENDO	4,59	4,27	3,91	5,80	5,72	6,11	6,30
GYNE	11,89	7,32	6,04	6,37	6,08	3,21	2,58
NEPHR	1,76	1,90	1,81	1,05	1,28	2,09	3,35
GERIA	1,07	0,63	0,15	0,15	0,56	0,80	1,41



Discussion sur l'évolution de la demande des dosages de 25(OH)D

Le nombre de dosages de 25(OH)D réalisés en France a considérablement augmenté depuis une dizaine d'années pour devenir le cinquième poste de dépenses de la sécurité sociale pour la biologie médicale en 2013.

Selon les données de la CNAMTS, le nombre de dosages a explosé à partir de 2007 : il a été multiplié par 10 entre 2007 et 2011 (le coût global de l'examen est passé dans le même temps de 13 M€ à 92,7 M€). Le volume des demandes a augmenté de 250 % entre 2007 et 2009. En 2011, 6,3 millions de dosages ont été réalisés en laboratoires privés et 8,1 millions en 2012, soit 28 % d'augmentation (Tableau 13), générant un montant de 72 millions d'euros remboursés par le régime général en 2012 (et de 144 M€ par tous les régimes) alors que depuis 2006 le nombre d'actes de biologie progressait en moyenne de 4,6 % (Diagramme 45). Cette augmentation est la conséquence de l'intérêt grandissant pour cette vitamine, de la remontée des seuils du statut optimal et donc de la prévalence, de l'automatisation du dosage. Le médecin généraliste peut prescrire facilement ce dosage à visée préventive.

La CNAMTS a réagi tout d'abord en baissant à plusieurs reprises la cotation de cet acte, de B90 soit 24,30 € à B42 soit 11,34 € (en 2010 : B80 = 21,60 € ; en 2011 : B75 = 20,25 € ; en 2012 : B65 = 17,55 € et en 2016 : B42 = 11,34 €), puis a émis une liste limitative de prise en charge des dosages après avoir saisi l'HAS sur l'utilité clinique du dosage.

- En 2011 nos chiffres correspondent aux données nationales de la CNAMTS (Tableau 43, Diagrammes 46 et 47). Entre 2011 et 2013 l'augmentation des demandes était plus marquée dans le Marmandais : 42 % d'augmentation entre 2011 et 2012 alors que celle-ci était de 28 % au niveau national). Après avoir connu une hausse constante, la demande du dosage de 25(OH)D a diminué depuis 2013. Cette diminution a touché proportionnellement davantage les femmes que les hommes (Tableau 44, Diagramme 48) : le rapport Homme/Femme est passé de 0,19 en 2009 à 0,39 en 2015. Le poste du dosage de la vitamine D occupait le rang 5 (rang en montant remboursé) en 2013 puis est passé au rang 10 en 2014 (source Biolam 2012-2014).

- La prescription du dosage a diminué à partir du deuxième trimestre 2013, date qui correspond à la publication de l'utilité du dosage de la 25(OH)D par la HAS (Tableau 45, Diagramme 49). La baisse atteint 126 % entre le premier semestre 2013 et le deuxième semestre 2015. Sur les deux dernières années, la baisse des demandes de 25(OH)D a atteint 90 % contre environ 5 % pour le nombre total d'ordonnances délivrées pour la biologie médicale, sur l'ensemble de nos sites d'étude (entre le deuxième semestre 2013 et le deuxième semestre 2015).

Le décret limitant le remboursement des analyses n'interviendra qu'en août 2014. Les médecins ont tenu compte des indications de la HAS et ont anticipé la restriction des motivations de prescriptions. La nouvelle nomenclature demande aux médecins d'inscrire la mention "Non remboursable" ou "Hors Nomenclature" à la suite de la demande de dosage lorsqu'elle est non listée par la directive. En fait, pour le moment, très peu d'ordonnances comportent cette mention HN. Nous avons comptabilisé ces demandes HN : aucune en 2010, 5 en 2013, 10 en 2014 et 15 en 2015. Mais nous n'avons pas pu différencier dans ce comptage les dosages HN provenant de la propre initiative d'un patient de ceux prescrits volontairement HN par un médecin. Les indications cliniques justifiant ce dosage ne sont pratiquement jamais mentionnées sur les ordonnances contrairement à ce que demandait le décret de l'UNCAM. Les laboratoires, sans les données cliniques sur les pathologies associées ne peuvent pas conclure si l'examen demandé entre dans le cadre des conditions limitatives du décret.

- Les tranches d'âge touchées par cette baisse des demandes (Tableaux 46 à 49 et Diagrammes 50 à 53) sont chez les femmes les 50-59 ans (de 21 % à 16% des dosages) et les 70-90 ans. La tranche 60-69 ans reste stable. Les tranches d'âge de moins de 50 ans sont en augmentation presque constante depuis 2009 mais représentent encore un poids relatif très faible : en 2009 le poids des analyses pour les femmes de moins de 50 ans était de 10,2 % et en 2015 de 22,4 %. Pour les hommes de moins de 50 ans celui-ci est passé de 16,1 % en 2009 à 17,9 % en 2015. Pour les sujets âgés de plus de 50 ans les variations sont : pour les femmes 89,2 % en 2009 et 77,6 % en 2015 et pour les hommes : de 83,9 % en 2009 et 82,1 % en 2015. Les variations sont donc beaucoup plus discrètes chez les hommes, mais touchent des tranches d'âge différentes : l'augmentation se produit pour la tranche 40-69 ans. Avant 40 ans les demandes restent stables, de 70 à 79 ans elles diminuent de 4 points et pour les plus de 80 ans la baisse atteint 8 points chez les hommes.

- Selon les catégories de spécialistes, les variations dans la progression du nombre des demandes sont assez disparates (Tableaux 50 et 51 ; Diagrammes 54 et 55). Ainsi pour les généralistes, une nette diminution du nombre de demande est observée à partir de 2013 :

- 93 % entre 2013 et 2015. Dans cette même période, les prescriptions des gynécologues diminuent de 350 % et celles des endocrinologues de 73 %. Chez les gynécologues une forte diminution des demandes est observée entre 2013 et 2014 (- 128%), la HAS ne préconisant pas le dosage chez les femmes enceintes ni chez les femmes plus âgées susceptibles d'être touchées par l'ostéoporose. En revanche la prescription de 25(OH)D par les gériatres a augmenté de 33%. Entre 2011 et 2015 les rhumatologues ont diminué leurs prescriptions de 130 % alors que les néphrologues augmentaient leurs prescriptions de 148 %. Pour les néphrologues, l'augmentation des demandes se produit à partir de 2012 suite aux nouvelles recommandations du KDIGO 2012 (142).

Sur la période 2009 à 2015, les généralistes gardent une part prépondérante dans les demandes de dosage (de 62 % en 2009 à 78 % en 2015). Les plus grandes variations concernent les gynécologues (12 % des demandes en 2009 vs 2,5 % en 2015) et surtout les rhumatologues (16 % des demandes en 2009 vs 4 % en 2015).

De nombreuses études ont relaté le taux élevé de carence en vitamine D chez les femmes enceintes surtout en fin de grossesse, d'autant plus si celle-ci se déroule en fin d'hiver. On pourrait s'inquiéter de la diminution des prescriptions de dosages de la part des gynécologues (bien que notre population suivie par ces spécialistes ne comporte pas beaucoup de femmes enceintes : moyenne d'âge 55 ans), mais la supplémentation de ces femmes est devenue systématique au cours du deuxième ou du troisième trimestre de la grossesse et sans dosage préalable de 25(OH)D (147,182-183).

Des thèses de doctorat ont évalué la motivation des généralistes à prescrire le dosage de la 25(OH)D : 45 % des généralistes le prescrivent en systématique chez les plus de 65 ans. Pour 48 % des prescripteurs la demande peut être motivée : par l'âge (plus de 65 ans), une suspicion de carence ou un manque d'exposition solaire, devant une ostéoporose, une fracture, pour juger d'une supplémentation (traitement d'attaque ou d'entretien) (135,180).

L'absence de signes cliniques évocateurs et la prévalence de l'hypovitaminose D a fait exploser les demandes de dosage de la part des généralistes : 58,5 % des médecins supplémentent leur patient dès que la concentration en vitamine D est inférieure à 75 nmol/l. Pourtant, le GRIIO en 2011, l'HAS en 2013 et la Revue Prescrire de 2013 préconisent la supplémentation chez les personnes âgées sans dosage de la 25(OH)D (c'est bien la tranche de population qui représente la majorité des demandes de dosages) (53,117,128). Or en 2012 environ 19 % des médecins seulement prescrivent une supplémentation systématique à leurs patients de plus de 65 ans (180).

Parallèlement à l'augmentation des dosages de 25(OH)D, on a pu observer également une explosion des ventes de spécialités pharmaceutiques contenant de la vitamine D (par exemple les ventes unitaires d'Uvedose® sont passées de 2 millions en 2005 à 16 millions en 2011. L'augmentation de la prescription de gouttes ou d'ampoules de vitamine D est largement supérieure à celle du dosage. Ce sont les généralistes qui en prescrivent le plus souvent (70 %) et toujours pour une majorité de femmes (70% contre 30 % chez les hommes), pour des jeunes jusqu'à 14 ans (25%) et des personnes plus âgées (55 % chez les plus de 55 ans) (source : laboratoire Crinex 2012). Le coût de l'engouement pour la vitamine D ne concerne donc pas uniquement le dosage de la 25(OH)D.

3. Intérêt et limites de ce travail

3.1 Les points forts de notre étude :

- le nombre important de valeurs de 25(OH)D associées aux autres variables que sont la date de prélèvement, l'âge, le sexe, le prescripteur.
- La durée de l'étude qui s'étend sur plus de six années nous a permis d'éliminer le biais de saisonnalité en comparant les valeurs par années successives tout en permettant une étude détaillée par saison ou par mois. On a pu ainsi mettre en valeur les variations de prévalence de l'hypovitaminose en fonction des différences d'ensoleillement annuelles.
- Il n'y avait pas de limites d'âge, ce qui nous a permis de connaître le statut des jeunes enfants et des adolescents, populations moins accessibles aux études épidémiologiques.
- La même méthode analytique de mesure des concentrations en 25(OH)D a été employée pour tous les sites. Ceci évite les biais de variations inter-laboratoires.

3.2 Les limites de l'étude et les obstacles rencontrés lors des comparaisons avec d'autres études :

- 3.2.1 Les problèmes liés à notre échantillon de population

- Nous avons travaillé sur un nombre de valeurs (39 922 valeurs) et non sur un nombre de sujets (certains sujets ayant pratiqué le dosage à plusieurs reprises au cours des sept années)

- La non connaissance des pathologies et du recours à une supplémentation : tous les sujets des différentes tranches de population observées dans cette étude avaient reçu une prescription de dosage et avaient donc consulté un médecin. Les pathologies n'étant pas renseignées, on ne peut préjuger de leur état de santé. Ainsi nous ne pouvons pas classer notre travail dans le cadre des études de prévalence sur une population en bonne santé et donc difficilement tirer des conclusions de la comparaison avec ces dernières. Il en est de même pour la question de la supplémentation. Ne connaissant pas les traitements ou automédication ou même compléments diététiques contenant de la vitamine D pris par les sujets de notre étude, nous ne pouvons pas calculer la part de la supplémentation responsable du niveau relativement bas de l'hypovitaminose D observée dans notre population par rapport aux autres études portant sur le même thème. Il est par ailleurs très difficile dans ces études scientifiques de faire la part de l'alimentation enrichie en vitamine D dans les taux moyens observés de 25(OH)D ou dans les taux de prévalence (134). Ainsi, pour une valeur donnée de 25(OH)D nous ne savons pas s'il s'agit d'une donnée diagnostique, d'une donnée de contrôle après un traitement de correction ou d'une donnée de surveillance après supplémentation d'entretien.

- 3.2.2 Les problèmes rencontrés lors de l'étude des facteurs influençant le statut vitaminique D.

Notre travail s'est arrêté à l'observation des différents statuts vitaminiques de notre population en fonction de paramètres démographiques tels que l'âge ou le sexe ou en fonction de paramètres environnementaux comme l'ensoleillement sans aller au-delà par le calcul des corrélations statistiques avec ces paramètres qui auraient permis l'évaluation de la force de l'association.

Le risque de déficit en vitamine D est associé à des facteurs individuels peu ou pas modifiables: lieu de résidence (latitude, ensoleillement, saison), âge, phototype, IMC et à des habitudes de vie (activité physique, sédentarité, habitudes vestimentaires et alimentaires).

Parmi les facteurs déterminants du statut vitaminique D, nous avons pu prendre en compte :

- l'âge et le sexe : nous avons une surreprésentation de la tranche d'âge 50-80 ans féminine (environ 50 % de nos valeurs). Or lorsqu'il y a supplémentation c'est bien à cette tranche de population qu'elle s'adresse majoritairement. Cela se retrouve dans la prévalence particulièrement basse observée dans notre population par rapport aux autres études sur cette tranche d'âge. Ce phénomène de surreprésentation s'observe également dans les autres études, ce qui limite les obstacles de comparaison mais ne les lève pas car les taux de surreprésentation ne sont jamais identiques (l'étude ENNS-2006 présentait une sous-représentation de la population des 18-29 ans et une surreprésentation de la population des 55-74 ans par rapport aux chiffres de l'Insee). D'autre part, l'âge avancé étant un facteur de risque bien établi d'hypovitaminose D, la tranche d'âge "supérieur à 50 ans" était intéressante à observer.

Globalement les hommes ont des moyennes inférieures aux femmes et une prévalence de l'hypovitaminose supérieure (71% vs 65%). Les données de la littérature sont variables sur l'influence du sexe sur l'état vitaminique D.

- l'ensoleillement qui varie selon la latitude. Les études de Chapuy, Hyppönen, Cavalier montrent également une dépendance du taux de déficit en vitamine vis-à-vis de la latitude : les personnes dans le nord de la France seraient plus carencées que dans le sud. Ne sont comparables que des études faites à des latitudes similaires. La latitude détermine les saisons et les heures auxquelles la synthèse cutanée de vitamine D est possible voire maximale. Ainsi la prévention de l'hypovitaminose ne peut être identique dans tous les pays.

- l'ensoleillement qui varie selon les saisons : Le mois de prélèvement a aussi une grande importance dans l'interprétation du statut vitaminique du patient. A des latitudes élevées la moyenne des concentrations peut pratiquement doubler entre février et septembre (Hyppönen). En France, il est bien établi que les populations habitant à des latitudes élevées auront durant l'hiver une prévalence de l'hypovitaminose D bien supérieure à celle des sujets de la Côte d'Azur en été par exemple. L'étude de Chapuy a permis de mettre en évidence qu'il n'y a aucune synthèse cutanée de vitamine D en France entre les mois de novembre à mars et que la quantité de vitamine D apportée par l'alimentation n'est pas suffisante pour combler le déficit de production en hiver. Dans le Marmandais, les valeurs les plus basses sont observées en hiver comme dans la majorité des études françaises et la remontée des taux s'effectue à partir des mois d'avril à juin selon l'ensoleillement mensuel de l'année considérée. Chez les hommes la moyenne augmente de 66 % entre février et septembre et l'insuffisance (< 75 nmol/l) diminue de 34 % entre hiver et été. La plage horaire durant laquelle l'exposition au soleil permet la synthèse varie également avec la saison : de 7h00 à 17h00 en été et de 10h00 à 15h00 en l'automne (22).

- De plus notre population rurale ou semi-urbaine ne connaît guère la pollution atmosphérique qui peut être un frein aux UVB (l'étude de Chapuy ciblait une population urbaine uniquement).

L'exposition au soleil apparaît comme un déterminant majeur de l'hypovitaminose D. Il est bien établi que le statut vitaminique D est étroitement associé au degré d'ensoleillement. Dans les pays de haute latitude l'hypovitaminose reste de règle, mais elle est aussi très fréquente dans les pays de basse latitude en raison du phototype et des habitudes vestimentaires. L'exposition au soleil reste la principale source de vitamine D dans l'organisme : elle représente près de 90% des besoins.

Nous n'avons pas de données sur le phototype, l'IMC, l'exposition en extérieur (temps de travail ou de loisir, plages horaires), l'utilisation d'écran solaire, le port de vêtements couvrants qui sont autant de facteurs de variation du statut vitaminique D. Nous n'avons pas non plus de renseignements sur le mode d'alimentation, les états physiologiques comme la grossesse ou les pathologies. Parmi tous ces facteurs certains peuvent être modifiés (habitudes de vie) pour bénéficier d'un meilleur statut.

3.2.3 Les problèmes techniques liés à la méthode de dosage, aux seuils et au vocabulaire.

- Bien que nos valeurs soient cohérentes vis à vis de la méthode de dosage (même technique Abbott pour toutes les données), la comparaison avec d'autres études pose le problème des biais dus aux coefficients de variation inter-techniques. Pour les techniques immunoenzymatiques, ce coefficient de variation peut aller jusqu'à 10 % et la technique Abbott a présenté les valeurs les plus basses lors de la comparaison inter-technique de l'Afssaps 2012 (125). Ainsi quand nos moyennes et certains niveaux d'hypovitaminose D du Marmandais (dans la zone **2** d'ensoleillement du BEH) se situent 10 % en dessous des valeurs de 25(OH)D relevées dans la zone d'ensoleillement **1** de l'étude BEH qu'en serait-il avec des techniques de dosage identiques ?

- L'absence de consensus pour définir un taux optimal de vitamine D, pour définir des paliers ou des plages de valeurs concernant l'hypovitaminose, ainsi que le vocabulaire variable selon les auteurs pour désigner une même plage de valeurs rend le travail de comparaison des études entre elles difficile et fastidieux. Ceci nous a obligé à changer de seuils, à changer de plage de valeurs pour le même terme de statut : par exemple, "insuffisance" désigne parfois un palier entre deux valeurs (25-50 nmol/l) parfois une limite de valeur (< 50 nmol/l). Ceci nous a également imposé la sélection d'études dont les critères techniques étaient voisins des nôtres (par exemple avec l'étude d'Hyppönen : technique immunoenzymatique, mêmes seuils). D'autre part, le nombre d'études sur la prévalence en France étant limité nous avons choisi de nous concentrer sur les relevés de l'ENNS-2006 qui est l'étude de référence en France. Ces seuils sont pourtant déterminants pour la perception de l'étendue de l'hypovitaminose D ainsi que pour l'élaboration des protocoles de traitement.

Les études les plus instructives reposent sur un état des lieux d'une population à risque type ou une comparaison entre populations de même profil, puisqu'en fait la multiplicité des seuils évoquent une pluralité de situations physiologiques ou pathologiques dans laquelle un groupe de personnes peut se situer (lieux de vie donc latitude, âge, phototype, pathologie associée...). Par exemple, beaucoup d'études ont été réalisées chez des femmes ménopausées ostéoporotiques où on retrouve des résultats bien plus homogènes comme une prévalence de la carence très élevée.

3.3 Perspectives

Nous attendons les premiers résultats de l'étude Esteban lancée par l'Institut de Veille Sanitaire en avril 2014, menée auprès d'un échantillon national de 4000 adultes de 18 à 74 ans et de 1000 enfants de 6 à 17 ans et qui permettra d'analyser les évolutions intervenues depuis l'ENNS 2006-2007. La comparaison des niveaux d'hypovitaminose D orientera peut-être les débats actuels sur la prise en charge de la prévention de cette déficience : davantage d'exposition solaire, enrichissement de l'alimentation ou supplémentation.

- Pour Holick, " Le soleil est de loin la meilleure et la plus fiable source de vitamine D pour la plupart des humains" (115). La source la plus efficace et durable de synthèse de la vitamine D est l'exposition solaire, et elle n'entraîne aucun effet de surdosage. Des recommandations par les instances de santé sur la pratique sportive en plein air pour les sujets jeunes ou de sortie plus fréquentes en extérieur pour les sujets plus âgés suffirait-elle à diminuer la prévalence ? Les taux sériques provenant de la synthèse cutanée durent deux fois plus longtemps que par supplémentation, mais l'exposition au soleil doit être contenue dans certaines limites (risque de mélanome).

- L'enrichissement systématique de certaines denrées alimentaires de base n'a pour l'instant pas permis d'éradiquer l'hypovitaminose D, mais a contribué à une nette diminution de la carence. Les valeurs ajoutées dans les différents produits alimentaires sont insuffisantes actuellement, pas assez répandues et d'un coût supplémentaire, ce qui exclut les populations précarisées (or chez celles-ci les taux d'hypovitaminose D sont souvent élevés). La dose adéquate devra tenir compte des spécificités des groupes de population, ce qui est difficile voire impossible à gérer. Pour certains auteurs, l'enrichissement artificiel de notre alimentation en vitamine D n'est pas une solution pertinente. Pour d'autres, une politique nationale de supplémentation des produits alimentaires, sans surcoût, permettrait de limiter la carence.

- La supplémentation reste le moyen le moins coûteux et le plus efficace actuellement pour la population âgée. Toutefois, il faut rappeler qu'il n'existe pas de réel consensus concernant les modalités de la supplémentation en vitamine D à titre préventif. Les tendances récentes révisent généralement les doses recommandées à la hausse. Elle devrait se faire de façon quasi systématique et sans dosage préalable, être généralisée à toutes les personnes institutionnalisées ou hospitalisées. C'est une mesure simple et peu onéreuse. Pour les autres groupes de population, cette solution est difficile à mettre en place et peut comporter des risques car il existe de grandes disparités entre les groupes et les individus. Le dépistage restera nécessaire pour les populations à risque car on ne peut juger du niveau d'insuffisance d'une femme voilée ou d'une personne de phototype 5 ou 6.

Dans notre région le niveau d'ensoleillement reste satisfaisant pour une synthèse cutanée efficace. La supplémentation est actuellement délivrée aux nourrissons et aux personnes âgées compte tenu de son effet préventif sur le risque de rachitisme et d'ostéoporose. Les apports par l'alimentation sont limités : la consommation de poissons est très réduite dans ce territoire éloigné de la mer et ne fait pas partie des habitudes alimentaires.

Remarques

- La variation des taux de 25(OH)D selon les années nous met en garde sur la réalisation d'une étude générale sur l'hypovitaminose D qui ne serait réalisée que sur une durée restreinte à une année. Par exemple, un raccourci nous amènerait à conclure qu'une démocratisation du dosage est associée à une augmentation de la prévalence de l'hypovitaminose D : 2013 est l'année où le nombre de prescriptions est le plus élevé et le niveau de déficit conséquent. Il faut tenir compte du facteur ensoleillement (2013 a été une année peu ensoleillée) et peut être qu'en élargissant l'éventail du dépistage à d'autres populations que celles suivies pour des pathologies ciblées (ostéoporose, IRC), on révèle une hypovitaminose D assez répandue dans la population générale. Ceci doit-il conduire au dépistage systématique ?

Un autre exemple concerne la baisse des demandes de dosage dans laquelle les hommes sont moins touchés que les femmes. Cela a-t-il eu un impact sur la prévalence de l'hypovitaminose D dans ces deux groupes ? Pour répondre à cette question il faudrait avoir un peu plus de recul car plusieurs paramètres entrent en jeu comme l'ensoleillement de l'année d'étude : la légère diminution de la moyenne en 25(OH)D de 2014 à 2015 alors que l'ensoleillement augmente est-elle due à la diminution des demandes qui redeviendraient focalisées sur des populations à risque et le suivi des traitements ?

- La prévalence de l'hypovitaminose D masculine est relativement importante et sous-estimée par les médecins généralistes au vu des demandes de dosages accordées à cette population. Des informations concernant le haut degré d'hypovitaminose D chez les hommes âgés de plus de 65 ans et les risques d'ostéoporose encourus devraient être délivrées aux médecins traitants tout au moins pour une supplémentation systématique de cette tranche d'âge.

Conclusion

L'engouement de la communauté médicale pour la vitamine D s'est décuplé ces dernières années avec un nombre d'articles scientifiques très important portant essentiellement sur ses effets non osseux et sur la prévalence de l'hypovitaminose D, entraînant *de facto* un accroissement généralisé de la prescription de suppléments et de dosages de la 25(OH)D.

Les comparaisons entre études sur la prévalence de l'hypovitaminose D sont limitées à cause de l'absence de consensus sur les valeurs des seuils de référence et la diversité des populations observées, notamment en termes de latitude, d'origine ethnographique, d'âge...

Dans la région du Marmandais, de latitude 44°N et bénéficiant d'un ensoleillement relativement important, la prévalence de l'hypovitaminose D est de 66 %. La carence reste inférieure à 5 % de la population, sauf chez les hommes âgés. La prévalence de l'hypovitaminose D est influencée par les saisons, celle-ci étant maximale chez les hommes de plus de 75 ans en hiver. Les recommandations sur la supplémentation des enfants et des femmes de plus de 50 ans se traduisent par des moyennes en vitamine D plus élevées dans ces groupes de patients. Notre étude, montre que le risque d'insuffisance en vitamine D est fréquent, surtout en fin d'hiver et au début du printemps comme dans les autres études portant sur la prévalence de l'hypovitaminose D.

La photographie de l'état de santé de notre région et les tendances d'évolution qui s'en dégagent corroborent les données épidémiologiques disponibles sur la vitamine D. La supplémentation des enfants et des femmes âgées de plus de 50 ans permet d'obtenir des taux de prévalence de l'hypovitaminose D plus faible par comparaison avec des études similaires sans supplémentation.

L'ANM regrettait en 2012 le manque de données concernant le statut vitaminique de la population française. Or les données épidémiologiques sur la prévalence de l'hypovitaminose D ont moins de portée pour le médecin que la connaissance des facteurs influençant le statut vitaminique D. Celle-ci peut lui permettre de juger si son patient est à risque de déficit ou non et de là prescrire une supplémentation avec ou sans dosage. Dans ce sens la Cour des Comptes avait recommandé l'élaboration d'un référentiel à destination des praticiens. Ce travail fut réalisé par la HAS pour la partie "indications du dosage", mais contesté par de nombreux experts qui trouvent ces indications de dosage de la vitamine D trop restrictives.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 Martins e Silva J. Brief history of rickets and of the discovery of vitamin D. *Acta Reumatol Port.* 2007 JulSep;32(3):205-29.
- 2 Briot K, Audran M, Cortet B, Fardellone P, Marcelli C, Orcel P, et al. Vitamin D: skeletal and extra skeletal effects; recommendations for good practice. *Presse Med.*2009 Jan;38(1):43-54.
- 3 Holick MF. Vitamin D deficiency. *New Engl. J. Med.*2007 Jul 19; 357 (3) : 266-281.
- 4 Mistretta VI, Delanaye P, Chapelle JP, Souberbielle JC, Cavalier E. Vitamin D2 or vitamin D3 ? *Rev Med Interne* 2008 ; 29 : 815-820.
- 5 Souberbielle J-C. Actualités sur la vitamine D. *Cahiers de Nutrition et de Diététique.* 2013; 48(2):63-74.
- 6 Anses, « Anses Table Ciquial 2012 Composition nutritionnelle des aliments » <http://www.afssa.fr/TableCIQUAL/index.htm>
- 7 Cogan E. Vitamin D supplementation: why and how?. *Rev Med Brux.* 2011 Sep;32(4):353-61.
- 8 Holick MF, Chen TC, Lu Z, et al. Vitamin D and skin physiology: a D-lightful story. *J Bone Miner Res* 2007;22(Suppl 2):V28–33.
- 9 Mallet E. Vitamine D. EMC *Pédiatrie -Maladies Infectieuses.* 2010;4-002-G-10:1-7
- 10 Tsiaras WG, Weinstock MA. Factors influencing vitamin D status. *Acta Dermato-Venereologica.* 2011, 91: 115-124.
- 11 Souberbielle J.C., Maruani G., Courbebaisse M.– Vitamine D : métabolisme et évaluation des réserves *La Presse Médicale.* 2013;42(10):1343-50.
- 12 Speeckaert M, Huang G, Delanghe JR, Taes YE. Biological and clinical aspects of the vitamin D binding protein (Gc-globulin) and its polymorphism. *Clin, Chim, Acta.* 2006 Oct;372(1-2):33-42.
- 13 Haddad JG, Matsuoka LY, Hollis BW, Hu YZ, Wortsman J. Human plasma transport of vitamin D after its endogenous synthesis. *J Clin Invest* 1993 ; 91 : 2552-2555.
- 14 Tissandié E, Guéguen Y, A.Lobaccaro JM, Aigueperse J, Soudi M. Vitamin D: métabolisme, régulation et maladies associées. *Medecine/Sciences.*2006;22:1095-100.
- 15 Heaney RP, Horst RL, Cullen DM, et al. Vitamin D3 distribution and status in the body. *J. Am. Coll. Nutr.* Vol 28 (3) Jun 2009: 252–256.
- 16 Dusso AS., Brown AJ, Slatopolsky E. Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005;289: F8-28,
- 17 Nykjaer A, Dragun D, Walther D, et al. An endocytic pathway essential for renal uptake and activation of the steroid 25-(OH) vitamin D3. *Cell* 1999 Feb; 96(4): 507-515.
- 18 Souberbielle J.C., Body J, Lappe J.M, Plebani M, Shoenfeld Y. et Wang T.J. Vitamin D and musculoskeletal health, cardiovascular disease, autoimmunity and cancer: Recommendations for clinical practice. *Autoimmun.* 2010.Rev.; 9 (11): 709-715.
- 19 Jones G, Prosser DE, Kaufmann M. 25-hydroxyvitamin D-24-hydroxylase (CYP24A1) : its important rôle in the degradation of vitamin D. *Arch Biochem Biophys* 2012;523:9-18.
- 20 Molin A, Figueres L, Souberbielle JC et al. Pathologie rénale de l'hypersensibilité à la vitamine D par mutation de CYP24A1. 2013. *Journées Nicolas Guéritée d'Endocrinologie et maladies métaboliques.*
- 21 Holick MF. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. *Mayo Clin Proc* 2006;81(3):353-73.
- 22 Holick MF. Environmental factors that influence the cutaneous production of vitamin D. *Am J Clin Nutr.* 1995 Mar;61(3 Suppl):638S-645S.
- 23 Holick MF, Matsuoka LY, Wortsman J. Age, vitamin D, and solar ultraviolet. *Lancet.* 1989 Nov 4;2(8671):1104-1105.
- 24 MacLaughlin J, Holick MF. Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D3. *J Clin Invest.* 1985 Oct;76(4):1536-8.
- 25 Cahn G. La Vitamine D : de la biologie à la pratique. *Annales de Gériatrie. Vol 2, N° spécial 2.* Sept 2009 p4-16.

- 26** Clemens TL, Adams JS, Henderson SL, Holick MF. Increased skin pigment reduces the capacity of skin to synthesise vitamin D3. *Lancet* 1982;1:74-76.
- 27** Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr*. 2000 Sep;72(3):690-3.
- 28** Landrier JF. Vitamine D : sources, métabolisme et mécanismes d'action. *OCL* 2014, 21(3) D302.DOI: 10.1051/ocl/2014001.
- 29** Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2004; 80:1678S-88S.
- 30** Norman AW. Sunlight, season, skin pigmentation, vitamin D, and 25-hydroxyvitamin D: integral components of the vitamin D endocrine system. *Am J Clin Nutr*. 1998 Jun;67(6):1108-10.
- 31** Webb AR. Who, what, where and when-influences on cutaneous vitamin D synthesis. *Prog Biophys Mol Biol*. Sept 2006;92(1):17-25.
- 32** Matsuoka LY, Ide L, Wortsman J, MacLaughlin JA, Holick MF. Sunscreens suppress cutaneous vitamin D3 synthesis. *J Clin Endocrinol Metab*. 1987 Jun;64(6) :1165-8.
- 33** Matsuoka LY, Wortsman J, Dannenberg MJ, Hollis BW, Lu Z, Holick MF. Clothing prevents ultraviolet-B radiation-dependent photosynthesis of vitamin D3. *J Clin Endocrinol Metab*. 1992 Oct;75(4):1099-1103.
- 34** Silve C. Le FGF-23, une nouvelle hormone de régulation de l'homéostasie du phosphate et du métabolisme de la vitamine D. *La Presse Médicale*, vol 34, n°19, part 1, nov 2005, p 1384-1390.
- 35** Schlingmann KP, Pirruccello JP, Do R, et al. 2011. Mutations in CYP24A1 and idiopathic infantile hypercalcemia. *N. Engl. J Med*. 365: 410–421
- 36** Pascussi JM, Robert A, Nguyen M, Walrant-Debray O, Garabedian M, Martin P, et al. Possible involvement of pregnane X receptor-enhanced CYP24 expression in drug-induced osteomalacia. *J Clin Invest*. 2005 Jan;115(1):177-86.
- 37** Norman AW, Okamura WH, Hammond MW, Bishop JE, Dormanen MC, Bouillon R, et al. Comparison of 6-s-cis- and 6-s-trans-locked analogs of 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 indicates that the 6-s-cis conformation is preferred for rapid nongenomic biological responses and that neither 6-s-cis- nor 6-s-trans-locked analogs are preferred for genomic biological responses. 1997. *Mol Endocrinol* 11, 1518-1531.
- 38** Dixon KM, Mason RS. Vitamin D. *Int J Biochem Cell Biol*. 2009;41(5):982-5.
- 39** Norman AW. From vitamin D to hormone D: fundamentals of vitamin D endocrine system essential for good health. *Am J clin Nutr* 2008; 88(2): 491S -499S
- 40** Velayoudom-Cephise FL. Profil métabolique associé au statut en vitamine D et polymorphismes des gènes codant son récepteur et transporteur spécifique dans une population caribéenne. *Thèse* Sept 2012.
- 41** Projet LoCaVitD : Caractérisation des voies de signalisation et des mécanismes d'action de la Vitamine D pour développer de nouvelles molécules thérapeutiques
- 42** Pike JW, Meyer MB, Lee SM. The Vitamin D Receptor: Biochemical, Molecular, Biological, and Genomic *Era Investigations*. In: Feldman D, Pike JW, Adams JS, editors. Vitamin D. Vol. 1: *Academic Press*; 2011. p. 97-135.
- 43** Morris HA, Anderson PH. Autocrine and paracrine actions of vitamin D. *Clin Biochem Rev* 2010; 31: 129-38.
- 44** Huet T. Exploitation de la relation structure-fonction du récepteur nucléaire de la vitamine D pour l'élucidation des mécanismes de la signalisation de la vitamine D. [*Thèse de doctorat*] France:Université de Strasbourg;2010.
- 45** Nemere I, Schwartz Z, Pedroso H, Sylvia VL, Dean DD, Boyan BD. Identification of a membrane receptor for 1,25-dihydroxyvitamin D3 which mediates rapid activation of protein kinase C. *J Bone Miner Res*. 1998 Sep;13(9):1353-1359.
- 46** Haussler MR, Jurutka PW, Mizwicki M, Norman AW. Vitamin D receptor (VDR)-mediated actions of 1alpha,25(OH)(2)vitamin D(3): genomic and non-genomic mechanism. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2011;25(4):543-59.

- 47** Chen J, Doroudi M, Cheung J, et al.. Plasma membrane Pdia3 and VDR interact to elicit rapid responses to 1 α ,25(OH)₂D₃. 2013. *Cell Signal* 25: 2362–2373.
- 48** Ross AC, Manson JE, Abrams SA et al. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96(1):53-8.
- 49** Salle B, Duhamel JF, Souberbielle JC. Statut vitaminique, rôle extraosseux et besoins quotidiens en vitamine D. Rapport, conclusions et recommandations. Académie Nationale de Médecine. *Bull Acad Natl Med* 2012 ; 196 : 1011-5.
- 50** Agency for Healthcare Research and Quality. Effectiveness and safety of vitamin D in relation to bone health. *Rockville: AHRQ*; 2007.
- 51** Agency for Healthcare Research and Quality. Vitamin D and calcium: A systematic review of health outcomes. *Rockville: AHRQ*; 2009.
- 52** Haute Autorité de Santé. Utilité clinique du dosage de la vitamine D : note de cadrage. Janvier 2013
- 53** Haute Autorité de Santé. Utilité clinique du dosage de la vitamine D : rapport d'évaluation. Octobre 2013.
- 54** Esterle L. La vitamine D: nouvelles données. *Cholé-doc*. 2010, 117 : 1-6.
- 55** Courbebaisse M, Souberbielle JC. Phosphocalcic metabolism: regulation and explorations. *Nephrol Ther*. 2011;7(2):118-138.
- 56** Pochic Julie. Exploration de l'équilibre phospho-calcique. Faculté de Médecine Montpellier 2e cycle – MIC – Rhumatologie – Hypercalcémie
- 57** Gomez-Brouchet A. Remodelage osseux : aspects biologiques et moléculaires www.medecine.ups-tlse.fr/pcem2/physiologie/doc/remodelage.doc
- 58** De Précigout V. Le métabolisme phospho-calcique. *Echanges de l'AFIDTN* N°70-juillet 2004
- 59** Holick MF and G M, Vitamin D: photobiology, metabolism, mechanism of action, and clinical applications, in *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism 2006: American Society for Bone and Mineral Research*; 106-14.
- 60** Jüppner H. Phosphate and FGF-23. *Kidney Int Suppl* 2011;121:S24-7.
- 61** Holick M.F.- Vitamin D status: measurement, interpretation, and clinical application. *Ann. Epidemiol*. 2009 Feb; 19(2):73-78.
- 62** Holick MF. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *The Journal of Clinical Investigation*. 2006, 116 : 2062-2072.
- 63** Souberbielle JC, Friedlander G, Kahan A, et al. Evaluating vitamin D status. Implications for preventing and managing osteoporosis and other chronic diseases. *Joint Bone Spine* 2006;73:249-53.
- 64** Audran M, and Chappard D. Rachitismes et Ostéomalacies à l'âge adulte. *Revue du rhumatisme monographies* 2012 ; 79(4): 248–52.
- 65** McKenna MJ, Freaney R. Secondary hyperparathyroidism in the elderly: means to defining hypovitaminosis D. *Osteoporos Int*, 1998, 8, S3-S6.
- 66** Schmitt C. Métabolisme Phosphocalcique *L2-UE8-Nutrition* – 2011 université Paris Diderot
- 67** Tonson la Tour A, Wilhelm-Bals A, Gonzalez Nguyen Tang E et al. Le point sur la vitamine D. *Pediatrica*. 2012;vol 23(4)
- 68** Les dosages biologiques dans l'ostéoporose. Cahier de formation Bioforma N°39 2007
- 69** Binkley N. Vitamin D and osteoporosis-related fracture. *Arch Biochem Biophys*. 2012;523(6):115-22.
- 70** Bischoff-Ferrari HA, Dietrich T, Orav EJ, Dawson-Hughes B. Positive association between 25-hydroxy vitamin D levels and bone mineral density: a population-based study of younger and older adults. *Am J Med* 2004;116:634-639.
- 71** Bischoff-Ferrari HA, Willett WC, Wong JB, Giovannucci E, Dietrich T ou WC, Dawson-Hughes B. Fracture prevention with vitamin D supplementation : a meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA* 2005;293:2257-2264.

- 72** Bischoff-Ferrari HA, Willett WC, Wong JB, et al. Prevention of nonvertebral fractures with oral vitamin D and dose dependency : A meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med* 2009;169:551-61.
- 73** Tang BM, Eslick GD, Nowson C, et al. Use of calcium or calcium in combination with vitamin D supplementation to prevent fractures and bone loss in people aged 50 years and older: a meta-analysis. *Lancet* 2007;370:657–66
- 74** Sanders KM, Stuart AL, Willianson E et al. Annual high-dose oral vitamin D and falls and fractures in older women: A randomized controlled trial. *JAMA* 2010;303:1815-1822.
- 75** Bischoff-Ferrari, Heike A., Walter C. et al. "A Pooled Analysis of Vitamin D Dose Requirements for Fracture Prevention." *N Engl J Med* 2012 ; 367 (1) : 40–49.
- 76** Hernandez T, Stoermann-Chopard C. Vitamine D et insuffisance rénale chronique : regain d'intérêt pour une vitamine oubliée. *Rev Med Suisse* 2012;(361);2140-45.
- 77** Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B. Estimation of optimal serum concentrations of 25OHD for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr* 2006; 84:18-28.
- 78** Bouvard B, Annweiler C, Sallé A et al. Les effets extra-osseux de la vitamine D: faits, questions et controverses. *Revue du Rhumatisme*. 2010;77:A18-A25.
- 79** Amstutz V., Cornuz J., Krieg M.-A. Favrat B. Vitamine D : actualité et recommandations. *Rev Med Suisse* 2011 ;7:2332-8.
- 80** Cavalier E, Souberbielle JC. La vitamine D : effets « classiques », « non classiques » et évaluation du statut du patient. *Médecine Nucléaire*. 2009;33(1):7-16.
- 81** Bischoff-Ferrari HA, Borchers M, Gudat F, Dürmuller U, Stähelin HB, Dick W. Vitamin D receptor expression in human muscle tissue decreases with age. *J Bone Miner Res* 2004;19:265-9.
- 82** Bischoff-Ferrari HA, Dietrich T, Orav EJ et al. Higher 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with better lower-extremity fonction in both active and inactive persons aged ≥ 60 y. *Am J Clin Nutr* 2004;80:752-8.
- 83** Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Staehelin HB, et al. Fall prevention with supplemental and active forms of vitamin D : A meta-analysis of randomized controlled trials. *BMJ* 2009;339:b3692.
- 84** Société française de gériatrie et gérontologie, Haute Autorité de Santé. Évaluation et prise en charge des personnes âgées faisant des chutes répétées. Argumentaire. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2009
- 85** Hewison M. Vitamin D and the immune system : new perspectives on an old theme. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2010 ; 39 : 365-79.
- 86** Bahri L, Sanhaji L, Tayeb Z et al. Vitamine D et immunité. *Rev Mar Rhum* 2013;23: 30-36
- 87** Lang P-O. Le rôle immunomodulateur de la vitamine D : quelle est sa place dans les défenses anti-infectieuses ? *NPG Neurologie - Psychiatrie - Gériatrie* 2013;13(74):71-78.
- 88** Martineau AR, Timms PM, Bothamley GH, et al. High-dose vitamin D(3) during intensive-phase antimicrobial treatment of pulmonary tuberculosis : a double-blind randomised controlled trial. *Lancet* 2011;377:242-50.
- 89** Aloia JF, Li-NgM. Epidemic influenza and vitamin D. *Epidemiol Infect.* 2007; 135(7):1095-6.
- 90** Brown TT, McComsey GA. Association between initiation of antiretroviral therapy with efavirenz and decreases in 25-hydroxyvitamin D. *Antivir Ther* 2010;15:425-429.
- 91** Mok, Chi Chiu. "Vitamin D and Systemic Lupus Erythematosus: An Update." *Expert Review of Clinical Immunology* 9, no. 5 (May 2013): 453–63.doi:10.1586/eci.13.19.
- 92** Merlino LA, Curtis J, Mikuls TR, et al. Vitamin D intake is inversely associated with rheumatoid arthritis: results from the Iowa Women's Health Study. *Arthritis Rheum* 2004;50:72-7.
- 93** Munger KL, Levin LI, Hollis BW, Howard NS, Ascherio A. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *JAMA* 2006;296:2832–8.
- 94** Zipitis CS, Akobeng AK. Vitamin D supplementation in early childhood and risk of type 1 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child* 2008: 93(6); 512-517.

- 95** Guillot X, Semerano L, Saidenberg-Kermanach N et al. Vitamine D et inflammation. *Revue du rhumatisme* 2011; 78 : 128-133.
- 96** Dutau G, Lavaud F. Vitamine D, immunité, asthme et symptômes d'atopie. *Revue Française d'Allergologie*. 2012;52:S10-S8.
- 97** Krall EA, Wehler C, Garcia RI, Harris SS, Dawson-Hughes B. Calcium and vitamin D supplements reduce tooth loss in the elderly. *Am J Med* 2001;111:452-6.
- 98** Dombrowski Y, Schaubert J. Cathelicidin LL-37: a defense molecule with a potential role in psoriasis pathogenesis. *Exp Dermatol*. 2012 May;21(5):327-30.
- 99** Redaelli CA, Wagner M, Tien YH et al. $1\alpha,25$ -dihydroxycholecalciferol reduces rejection and improves survival in rat liver allografts. *Hepatology* 2001; 34: 926-34.
- 100** Lappe JM, Travers-Gustafson D, Davies KM et al. Vitamin D and calcium supplementation reduces cancer risk: results of a randomized trial. *Am J Clin Nutr* 2007;85:1586-91.
- 101** Cormier C, Courbebaisse M, Maury E, Thervet E, Souberbielle JC. Influence de la vitamine D sur le risque cardiovasculaire. *Journal des Maladies Vasculaires*. 2010; 35:235-241
- 102** Wang TJ, Pencina MJ, Booth SL, Jacques PF, Ingelsson E, Lanier K et al. Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation* 2008;117:503-11.
- 103** Eliades M, Pittas AG. Vitamin D and Type 2 Diabetes. In: Holick MF, editor. Vitamin D: Physiology, Molecular Biology, and Clinical Applications. *Nutrition and Health*. 2nd ed: Humana Press; 2010. p. 895-920.
- 104** Le Fur A. Association entre le taux de vitamine D et le devenir des patients transplantés rénaux. *Thèse* 2013.
- 105** Chiu KC, Chu A, Go VL, Saad MF. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction. *Am J Clin Nutr*.2004;79(5):820-5.
- 106** Pittas AG, Lau J, Hu FB, Dawson-Hughes B. The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92(6): 2017-29.
- 107** De Paula FJA, Rosen CJ. Vitamin D and Fat. In: Feldman D, Pike JW, Adams JS, editors. Vitamin D. Vol. 1: *Academic Press*; 2011. p. 769-76
- 108** Thouvenot E, Camu W. Vitamine D et neurologie. *La Presse Médicale*, vol 42, n°10, oct 2013, pages 1398-1404 – doi:10.1016/j.lpm.2013.07.012
- 109** Benachi A, Cordier AG, Courbebaisse M, Souberbielle J.C. Vitamine D et grossesse. *La Presse Médicale*, vol 42, n°10, Oct 2013, 1377-1382 – doi:10.1016/j.lpm.2013.07.007
- 110** Autier P, Gandini S. Vitamin D supplementation and total mortality. A meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med* 2007;167(16):1730-1737.
- 111** Pilz S, Iodice S, Zittermann A, Grant WB, Gandini S. Vitamin D status and mortality risk in CKD : A meta-analysis of prospective studies. *Am J Kidney Dis* 2011; 58:374-82.
- 112** Hollis BW. The determination of circulating 25-hydroxyvitamin D: no easy task. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:3149-51.
- 113** Souberbielle JC, Prie D, Courbebaisse M, Friedlander G, Houillier P, Maruani G, et al. Update on vitamin D and evaluation of vitamin D status. *Ann Endocrinol*. 2008;69(6):501-10.
- 114** Le Goff C, Souberbielle JC, Delvin E, Cavalier E. Le dosage de la vitamine D : considérations pré-analytiques et analytiques. *Ann Biol Clin* 2015 ; 73(1) : 79-92 doi:10.1684/abc.2014.1002
- 115** Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96(7):1911- 30.
- 116** Pania-Ferrari P. Standardisation de la vitamine D: la fin du problème ? *Forum immunoanalyse Siemens*. Paris, 30 mai 2013.
- 117** Benhamou CL, Souberbielle JC, Cortet B, Fardellone P et al. La vitamine D chez l'adulte : recommandations du GRIO. *Presse Med* 2011 ; 40 :673-82.
- 118** Afsaps. Recommandations à destination des biologistes concernant la spécificité des dosages de vitamine D. Juillet 2009 Disponible sur www.afssaps.fr

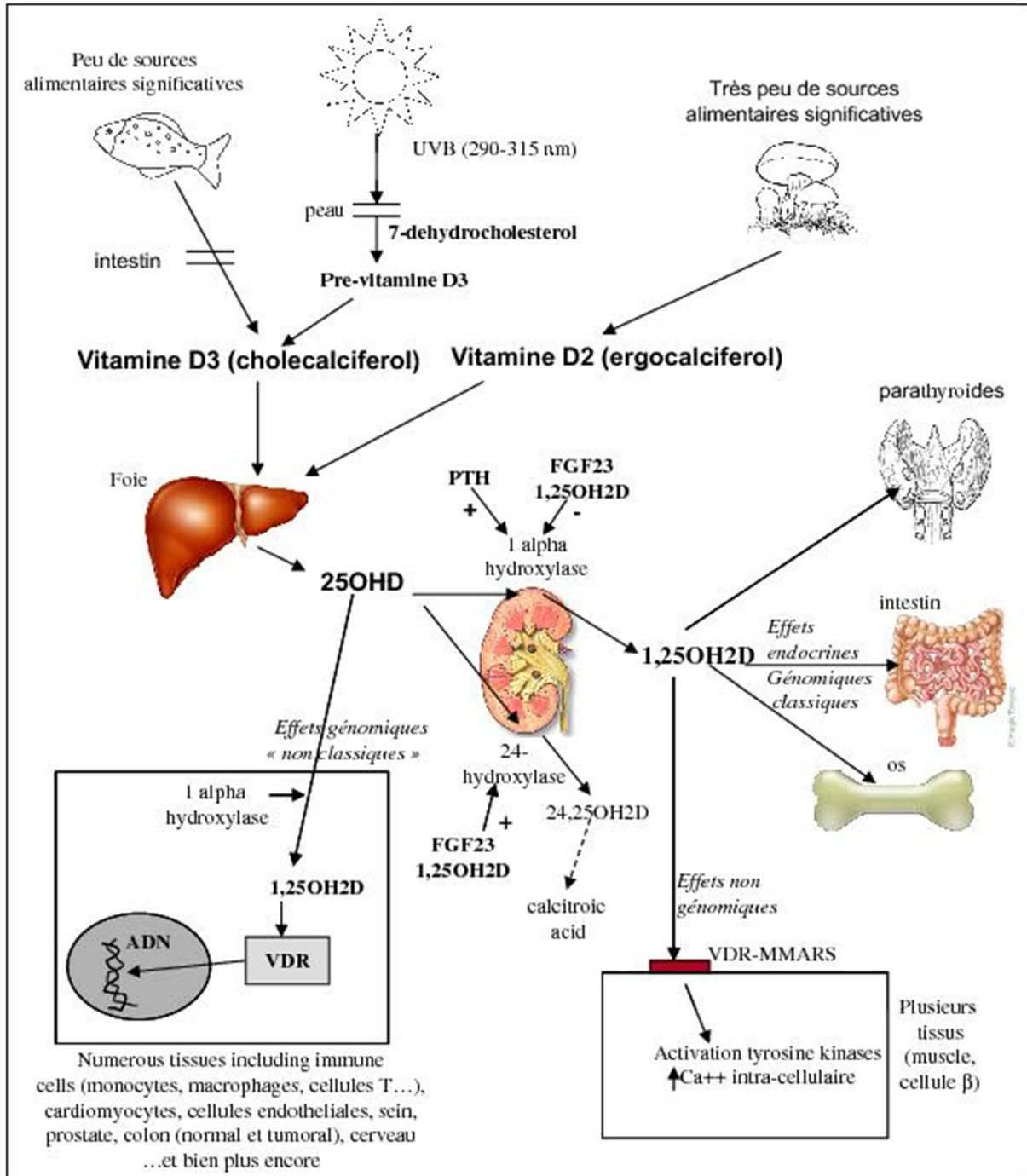
- 119** Fiche documentation Elecsys® Vitamin D total. Précision, exactitude, convenance. *Roche Diagnostics*, 2011
- 120** Technologie ECL : électrochimiluminescence. Roche-Diagnostics. *Journal d'information biomédicale N°71* avril 2005
- 121** Fiche documentation Architect 25 OH vitamine D. *Abbott* 2010.
- 122** Saïda B, Chen X, Tran K, Dou C et Yuan C. Diazyme 25(OH)D assay. Diazyme Laboratories, *Expert Rev. Mol. Diagn. Early online*, 1–11 (2014) doi: 10.1586/14737159.2015.988144
- 123** Cavalier E, Lukas P, Crine Y, Peeters S, Carlisi A, Le Goff C, et al. Evaluation of automated assays for 25(OH)-vitamin D determination in different critical populations before and after standardization of the assays. *Clin Chim Acta* 2014 ; 431 : 60-5.
- 124** Audran M, Briot K. Analyse critique du déficit en vitamine D. *Revue du rhumatisme* 77 (2010) 139–143. doi: 10.1016/j.spin.2009.12.003
- 125** Noel M, Souberbielle JC. AFSSAPS : Annales du Contrôle national de Qualité des Analyses de Biologie Médicale: Hormone de croissance, parathormone, 25OHVitamine D. *Annales GPV*. 2011
- 126** Cavalier E. Les interférences dans les immunodosages. *CHU de Liège* 2014.
- 127** Heaney R. Vitamin D: how much do we need, and how much is too much? *Osteoporos Int* 2000;11:553–5.
- 128** Revue Prescrire. «Insuffisance» en vitamine D chez les adultes, Gare aux concepts trop flous pour rendre service aux patients. *La revue Prescrire; Tome 33 N°356* ;2013 :33:435-438.
- 129** Luxwolda M,; Kuiperst R,; Kema I, et al. Traditionnally living populations rn East Africa have a mean serum 2i-hydroxyvitamin D concentration of 115 nmolL. *British Journal of Nutrition* 2012;108:1 557-61
- 130** Dawson-Hugues B, Heaney RP, Holick MF, Lips P, Meunier PT, Vieth R. Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporos Int* 2005;16:713-6.
- 131** Steingrimsdottir L, Gunnarsson O, Indridason OS et al. Relationship between serum parathyroid hormone levels, vitamin D sufficiency, and calcium intake. *JAMA* 2005;294:2336-41.
- 132** Vivien M. Le diabète de type 2 et le déficit en vitamine D. *Thèse* 2013
- 133** Heaney RP, Dowell MS, Hale CA, et al. Calcium absorption varies within the reference range for serum 25-hydroxyvitamin D. *J Am Coll Nutr* 2003;22(2):142-6.
- 134** Institut de veille sanitaire. Etude nationale nutrition santé ENNS, 2006. Situation nutritionnelle en France en 2006 selon les indicateurs d'objectif et les repères du Programme nationale nutrition santé (PNNS). *SaintMaurice:INVS*;2007.
- 135** Grosset-Zweyacker S. Diagnostic et prise en charge des hypovitaminoses D chez l'adulte. Enquête auprès des médecins généralistes de Gironde. *Thèse* 2014
- 136** Lips P. Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly; consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications. *Endocrine Review*. 2001;22:477-501.
- 137** Dawson-Hughes B, Mithal A, Bonjour JP, Boonen S, Burckhardt P, Josse RG, Lips P, et al. IOF position statement: vitamin D recommendations for older adults. *Osteoporos Int*. 2010 Jul;21(7):1151-1154.
- 138** Holick MF and Chen TC, Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *Am J Clin Nutr* 2008: 87 (4); 1080S-6S.
- 139** Souberbielle JC, Cormier C, Kindermans C, et coll. Vitamin D status and redefining serum parathyroid hormone reference range in elderly. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:3086-90
- 140** Heaney RP, Holick MF. Why the IOM recommendations for vitamin D are deficient. *J Bone Miner Res*.2011;26(3):455-57.
- 141** Rosen CJ, Abrams SA, Aloia JF et coll. "IOM Committee Members respond to endocrine society vitamin D guideline" *J Clin Endocrinol Metab* 2012 ; 97(4) : 1146-1152.

- 142** International Society of Nephrology. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int Suppl* 2013;3:1-150.
- 143** Lips P, Hosking D, Lippuner K, Norquist JM, Wehren L, Maalouf G. Prevalence of vitamin D inadequacy amongst women with osteoporosis: an international epidemiological investigation. *J Intern Med* 2006;260:245-54.
- 144** Fardellone P, Sebert JL, Garabedian M, Bellony R, Maamer M, Agbomson F, et al. Prevalence and biological consequences of vitamin D deficiency in elderly institutionalized subjects. *Rev Rhum Engl Ed* 1995;62:576-81.
- 145** Chapuy MC, Preziosi P, Maamer M, et al. Prevalence of vitamin D insufficiency in an adult normal population. *Osteoporos Int* 1997;7:439-443.
- 146** Vernay M, Sponga M, Salanave B, Oléko A et al. Statut en vitamine D de la population adulte en France : Etude nationale nutrition santé (ENNS, 2006-2007). *BEH* 2012;(16-17):189-194.
- 147** Cavalier E, Delanaye P, Morreale A et al. La carence en vitamine D chez les femmes enceintes en région liégeoise. *Rev Med Liege* 2008; 63 : 2 : 87-91
- 148** Bruyère O, Malaise O, Neuprez A, et al. Prévalence élevée de la carence en vitamine D chez la femme ménopausée en Europe et principalement en France: analyse d'une cohorte de 8532 sujets. *Revue du Rhumatisme*. 2006, 73 : 1052.
- 149** Annweiler C, Souberbielle JC, Schott AM, de Decker L, Berry G, Beauchet O. Vitamine D chez la personne âgée: les 5 points à retenir. *Ger Psychol Neuropsychiatr Vieil*. 2011;9(3).
- 150** Schmidlin S, Bioteau C, Detavernier M, Couturuerr P, Gavazzi G. Prévalence de l'hypovitaminose D chez les patients âgés hospitalisés en clinique de gériatrie. *Presse Med* 2010;39:271-2.
- 151** Souberbielle JC, Courbebaisse M, Cormier C, et al. When should we measure vitamin D concentration in clinical practice? *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 2012;243:129-35
- 152** Kennel, K.A., Drake, M.T., Hurley, D.L. Vitamin D deficiency in adults: when to test and how to treat. *Mayo Clin Proc*. 2010;85:752-757.
- 153** GRIO, Briot K, Cortet B, Thomas T, Audran M et al.. Actualisation 2012 des recommandations françaises du traitement médicamenteux de l'ostéoporose post-ménopausique. *Rev Rhum* 2012;79(3):264-74.
- 154** Haute Autorité de Santé. Suivi ambulatoire de l'adulte transplanté rénal au-delà de 3 mois après transplantation. Recommandations. *Saint-Denis La Plaine: HAS*; 2007.
- 155** Haute Autorité de Santé. Obésité: prise en charge chirurgicale chez l'adulte. *Saint-Denis La Plaine : HAS*; 2009
- 156** Souberbielle JC, Benhamou CL, Cortet B, Rousiere M, Roux C, Abitbol V, et al. HAS report on vitamin D measurement: Don't go from an extreme situation to another as extreme situation. *Presse Med*. 2014;43(1):5-8.
- 157** Souberbielle JC, Benhamou CL, Cortet B, Rousiere M, Roux C, Abitbol V, et al. Ostéopathies fragilisantes, maladie rénale chronique, malabsorptions, anomalies biologiques du métabolisme phosphocalcique : les bonnes indications pour un remboursement raisonné du dosage de vitamine D. *Ann Biol Clin* 2014 ;172 :385-9.
- 158** Martin A. Apports nutritionnels conseillés pour la population française, 3e édition. *Tec et Doc*; 2001;229-236.
- 159** AFSSA. 2009. Étude Individuelle Nationale des Consommations Alimentaires 2 (INCA 2) 2006–2007. publication de septembre 2009 (version 2)
- 160** Vieth R. Why the optimal requirement for vitamin D3 is probably much higher than what is officially recommended for adults. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2004;89:575-9.
- 161** Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, Avis de l'Anses, Saisine n°2012-SA-0142, Maisons-Alfort, le 13 mars 2015
- 162** Bischoff-Ferrari H, Stähelin HB. Supplémentation en vitamine D et en calcium. Nouvelles recommandations et aspects de santé publique. *Forum Med Suisse* 2011; 11(50):930-6.
- 163** Vidailhet M, Mallet E, Bocquet A, Bresson JL et al. La vitamine D : une vitamine toujours d'actualité chez l'enfant et l'adolescent. *Mise au point par le Comité de nutrition de la Société française de pédiatrie*. 2012.

- 164** Garabedian, M., S. Menn, O. Walrant-Debray, C. Teinturier, et al. "Prévention de la carence en vitamine D chez l'enfant et l'adolescent. II. Validation d'un abaque décisionnel non invasif prenant en compte l'exposition solaire et les apports exogènes de vitamine D." *Archives de pédiatrie*, 2005, vol 12(4): 410–19.
- 165** Raynaud-Simon, Agathe, Yves Rolland, and Jean-Claude Souberbielle. "Vitamine D chez la personne âgée : pourquoi ? Quand ? Comment ?" *Nutrition Clinique et Métabolisme* 28, no. 2 (May 2014): 123–29. doi:10.1016/j.nupar.2014.03.013.
- 166** Heaney RP, Davies KM, Chen TC, Holick MF, Barger-Lux MJ. Human serum 25-hydroxycholecalciferol response to extended oral dosing with cholecalciferol. *Am J Clin Nutr.* 2003 Jan;77(1):204-10.
- 167** Ish-Shalom S, Segal E, Salganik T, et al. Comparison of daily, weekly, and monthly vitamin D3 in ethanol dosing protocols for two months in elderly hip fracture patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:3430-5.
- 168** Bischoff-Ferrari HA. How to select the doses of vitamin D in the management of osteoporosis? *Osteoporos Int* 2007;18:401-7
- 169** Berrut G, Beauchet O. Vitamine D et efficacité des bisphosphonates dans l'ostéoporose. *Annales de Gériatrie. Vol 2.* Septembre 2009.p 17-18.
- 170** Courbebaisse M, Souberbielle J.C, Therve E. Effets osseux et extra-osseux potentiels de la vitamine D après transplantation rénale. *Le Courrier de la Transplantation.* 2011.Vol XI:133-140.
- 171** Armas LA, Hollis BW, Heaney RP. Vitamin D2 is much less effective than vitamin D3 in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004 Nov;89(11):5387-91.
- 172** Tripkovic L, Lambert H, Hart K, Smith CP, Bucca G, Penson S, et al. Comparison of vitamin D2 and vitamin D3 supplementation in raising serum 25-hydroxyvitamin D status: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 2012 Jun;95(6):1357-64.
- 173** Hathcock JN, Shao A, Vieth R, Heaney R. Risk assessment for vitamin D. *Am J Clin Nutr.* 2007 Jan;85(1):6-18.
- 174** Chambellan-Tison C, Horen B, Plat-Wilson G et al. Hypercalcémie majeure secondaire à une intoxication par la vitamine D. *Archives de Pédiatrie, vol 14, n°11, nov 2007, pages 1328-1332 – doi:10.1016/j.arcped.2007.08.005.*
- 175** Dosage de la vitamine D : quelles indications de valeurs sur les comptes-rendus. *Note d'information de la Société Française de Rhumatologie.* Juillet 2013
- 176** Territoire de santé Lot-et-Garonne. *ORS Aquitaine.* octobre 2012
- 177** Territoire de santé du Lot-et-Garonne. Indicateurs Territoriaux. *ARS Aquitaine.* Janvier 2015
- 178** Hyppönen E, Power C. Hypovitaminosis D in British adults at age 45 y- nationwide cohort study of dietary and lifestyle predictors *Am J Clin Nutr* 2007;85(3):860-8.
- 179** DREES 2015 L'état de santé de la population en France. Édition 2015
- 180** Patrelle B. Le statut vitaminique D des personnes de plus de 65 ans hospitalisées au sein des hôpitaux. *Thèse doctorat médecine* 2012
- 181** Lebowitz D, Juillet C, Kehtari R. Carence nutritionnelle après bypass gastrique : revue de la littérature, recommandations et suivi. *Rev Med Suisse* 2012;649-654
- 182** Madelenat P, Bastian H, Menn S. Supplémentation hivernale au 3e trimestre de la grossesse par une dose de 80 000 UI de vitamine D. *J Gynécol Obstet Biol Reprod* 2001; 30:761-767
- 183** Trémollières F. La supplémentation en vitamine D pendant la grossesse. *26è Journée scientifique du GRIO.* Janv 2013.

ANNEXE

Résumé du métabolisme de la Vitamine D par Souberbielle (5)



HERAUD Catherine – La Vitamine D vue à travers le prisme du Marmandais.

TH. D. Pharmacie : Bordeaux / 2016 ; n° 98

Résumé :

Introduction

Cette étude rentre dans le cadre des études épidémiologiques observationnelles sur le statut vitaminique D de la population française. Son objectif s'est limité à l'étude de la population du Marmandais dans sa globalité sur une période de plus de 6 années consécutives.

Méthodologie : Les 39 922 valeurs traitées de 25(OH)D ont été obtenues par la même technique de dosage CMIA provenant d'un seul laboratoire.

Résultats : Les dosages de 25(OH)D concernent 8 femmes pour 2 hommes. Les taux moyens de 25(OH)D sont de 66,6 nmol/l dans une population dont l'âge moyen est de 64 ans. L'état de carence (< 25 nmol/l) est relativement faible (< 5%), l'insuffisance sévère (< 50 nmol/l) de 31 % et l'insuffisance modérée (< 75 nmol/l) de 66 %. Les analyses statistiques montrent que (i) les hommes présentent globalement des moyennes inférieures à celles des femmes (62,9 nmol/l versus femmes 67,7 nmol/l) (ii) il existe des variations en fonction de l'âge, (iii) l'année ainsi que le mois de prélèvement influent sur le taux de 25(OH)D : moyenne de 62 nmol/l en 2012 vs 73 nmol/l en 2010; chez les hommes : moyenne de 47,9 nmol/l en février 2013 versus 80,3 nmol/l en septembre 2013; la carence varie de 8,9 % en hiver à 1,8 % en été et (iv) les populations à risque suivies par leur spécialiste respectif présentent généralement des taux plus élevés que la population générale (rhumatologues : 78,3 nmol/l versus généralistes 64,8 nmol/l). Enfin le nombre de demandes de 25(OH)D ayant beaucoup augmenté ces dernières années, une nette diminution s'est opérée à partir du deuxième semestre 2013 (- 126 % de 2013 à 2015)

Conclusion : Cette étude a pu montrer une prévalence de l'hypovitaminose D moins importante dans le Marmandais que dans l'ensemble de la population française. Ceci est dû à la supplémentation orchestrée par les médecins généralistes dans la population féminine âgée de plus de 50 ans. La prévalence reste importante dans la population masculine.

Mots clés : Vitamine D, épidémiologie, statut vitaminique D du Marmandais, prescripteurs, dosages.

Title : Vitamin D levels as observed in the Marmandais, S.W.France.

Laboratoire de Pharmacognosie

UFR des Sciences Pharmaceutiques

Université de Bordeaux

146, Rue Léo Saignat

33 076 Bordeaux Cedex