

Métabolisme et effets de la vitamine D, définition du déficit en vitamine D

Jean-Claude Souberbielle

Service d'Explorations Fonctionnelles, Hôpital Necker-Enfants Malades, 149 rue de Sèvres, 75015 Paris, France

Auteur correspondant : Jean-Claude Souberbielle, jean-claude.souberbielle@nck.aphp.fr

Reçu le 28 janvier 2014

Résumé – La communauté médicale et scientifique est très intéressée par la vitamine D comme en témoigne le nombre impressionnant de publications sur le sujet. De très nombreux experts considèrent que le déficit/insuffisance en vitamine D est une situation très fréquente ayant des conséquences potentielles importantes en termes de santé publique. Il peut sembler étonnant qu'un déficit en vitamine D soit aussi fréquent dans des pays où la nourriture est variée et accessible. En fait, la vitamine D n'est pas une vitamine au sens habituel du terme car elle est synthétisée par la peau lorsque celle-ci est exposée à des rayonnements UVB, et ses sources purement alimentaires sont peu nombreuses. Le fait que les UVB soient absents pendant la période « hivernale » à des latitudes supérieures à 35–40°, et que la pollution, la couverture nuageuse, la pigmentation de la peau, le port de vêtements couvrants soient des facteurs qui empêchent la synthèse cutanée de vitamine D, explique la fréquence du déficit en vitamine D. La vitamine D doit être hydroxylée deux fois pour former son métabolite actif, la 1,25-dihydroxy vitamine D ou calcitriol. Le calcitriol, qui est sécrété par les cellules du tubule proximal rénal dans la circulation et se lie à un récepteur dans des tissus distants du rein où il exerce divers effets génomiques, peut être considéré comme une véritable hormone. Dans cet article, nous résumons brièvement le métabolisme et les effets de la vitamine D, ainsi que les indications des dosages de vitamine D. Nous discutons également la définition du déficit en vitamine D en séparant la population générale des patients présentant des pathologies osseuses et rénales.

Mots clés : vitamine D / 25-hydroxy vitamine D / calcitriol / ostéoporose / hormone

Abstract – Metabolism and effects of vitamin D. Definition of vitamin D deficiency.

There is a growing interest for vitamin D in the medical and scientific community as well as in the public media as illustrated by a huge number of publications. Most experts claim that vitamin D deficiency/insufficiency is widespread with potential important public health consequences. It may seem surprising for many persons that a deficiency in a vitamin may be so frequent in countries where food is so diversified and easily available. In fact, vitamin D is not a vitamin *stricto sensu* as it is mainly synthesized in the skin under the action of UVB rays, while its food sources are scarce. Furthermore, UVB rays are absent during a marked part of the year at latitudes greater than 35–40°, while pollution, cloud cover reduce the number of UVB reaching the earth, and many factors such as age, skin pigmentation, covering clothes, sun creams reduce the capacity of the skin to synthesize vitamin D₃. Vitamin D must be hydroxylated to form 1,25-dihydroxyvitamin D (1,25OH₂D), the active metabolite. As 1,25OH₂D is released into the bloodstream and binds to a receptor present in several distant tissues, it may be considered as a hormone, vitamin D being thus a pre-prohormone. In the present article, we review briefly the metabolism and various effects of vitamin D as well as vitamin D treatments. We define vitamin D deficiency/insufficiency considering separately the population and the patient level and propose our opinion according to which patients may benefit from vitamin D testing.

Key words: vitamin D / 25-hydroxyvitamin D / calcitriol / osteoporosis / hormone

Abréviations

1,25OH ₂ D	1,25-dihydroxy-vitamine D ou calcitriol
25OHD	25-hydroxy-vitamine D
AJR	Apports Journaliers Recommandés
ANC	Apports Nutritionnels Conseillés
DBP	<i>D Binding Protein</i>
DFG	Débit de Filtration Glomérulaire
ENNS	Programme National Nutrition-Santé
IOM	<i>Institute of Medicine</i> nord-américain
IRC	Insuffisance Rénale Chronique
PTH	Parathormone
RXR	Récepteur de l'acide rétinoïque
VDBP	<i>Vitamin D Binding Protein</i>
VDRE	Éléments de réponse à la vitamine D

Métabolisme de la vitamine D

La vitamine D est très importante pour la croissance et la santé osseuse. À côté de ses effets classiques bien connus sur le métabolisme phospho-calcique et osseux, la vitamine D a des effets de mieux en mieux documentés sur bien d'autres fonctions de l'organisme.

Quand on parle de vitamine D, on considère indifféremment la vitamine D₃ ou cholécalciférol, d'origine humaine ou animale, et la vitamine D₂ ou ergocalciférol d'origine végétale. Le terme « vitamine », c'est-à-dire un produit « vital » que l'organisme ne peut pas produire, est très largement inapproprié pour la vitamine D. En effet, bien qu'il existe quelques rares sources alimentaires de vitamine D₃, principalement les poissons gras marins (tableau 1), et que des suppléments sous forme de vitamine D₃ ou de vitamine D₂ soient disponibles, la peau, à partir du 7-déhydrocholestérol, peut synthétiser de la vitamine D₃ sous l'action des rayonnements UVB et il s'agit là de la source naturelle principale de vitamine D (Holick *et al.*, 2007). Ces UVB ne sont présents en France que quelques mois par an (entre avril et octobre à Paris par exemple) et ce n'est qu'à ces périodes que la synthèse cutanée de vitamine D₃ est possible. Pendant ces périodes, la synthèse cutanée de la vitamine D₃ est toutefois dépendante de différents facteurs. Elle est diminuée chez les sujets âgés (du fait d'un appauvrissement cutané en 7-déhydrocholestérol), chez les sujets à peau pigmentée (la pigmentation agissant comme un filtre pour les UVB), ou en cas de pollution atmosphérique ou de couverture nuageuse (du fait d'une moindre disponibilité des UVB). Le port de vêtements couvrants ou l'utilisation de crèmes solaires empêchent la synthèse

de vitamine D. Le fait de vivre dans une région ensoleillée n'est donc pas obligatoirement synonyme de production optimale de vitamine D. La vitamine D (D₂ ou D₃) doit être transformée au niveau hépatique puis au niveau rénal pour devenir pleinement active en se liant à un récepteur présent dans des tissus cibles qu'elle atteint *via* la circulation sanguine. Elle peut donc être considérée plutôt comme une « pré-pro-hormone » que comme une vitamine.

La vitamine D (D₂ ou D₃) est transportée dans le sang par la « *vitamin D binding protein* » (VDBP) et est hydroxylée dans le foie pour former la 25-hydroxyvitamine D (25OHD). Cette hydroxylation hépatique est très peu régulée et, plus on ingère ou plus on synthétise de vitamine D, plus on fait de 25OHD. La demi-vie de la 25OHD est de l'ordre de trois semaines et sa concentration sérique représente le statut vitaminique D d'un individu. Ceci est un consensus. Pour devenir pleinement active, la 25OHD doit de nouveau être hydroxylée sous l'action d'une enzyme, la 1 α -hydroxylase, pour donner de la 1,25-dihydroxyvitamine D (1,25OH₂D) ou calcitriol, le métabolite actif de la vitamine D dont la demi-vie est courte (environ 4 h). Cette seconde hydroxylation se fait classiquement dans les cellules du tubule proximal rénal, mais on sait aujourd'hui qu'elle est possible dans de très nombreux autres tissus. Avant d'être hydroxylée dans le rein, la 25OHD liée à la VDBP est filtrée par le glomérule puis réabsorbée de manière active dans la cellule tubulaire proximale *via* des récepteurs membranaires dont le plus connu est la mégaline. La mégaline piège la VDBP et l'internalise dans la cellule où elle est détruite, libérant ainsi la 25OHD qui peut alors soit être hydroxylée par la 1 α -hydroxylase, soit être sécrétée dans la circulation. L'hydroxylation par la 1 α -hydroxylase rénale est très étroitement régulée par les hormones du métabolisme phospho-calcique. Elle est stimulée en particulier par la PTH et inhibée par le FGF23 et le calcitriol lui-même. Elle permet de produire la 1,25OH₂D « hormone » qui va passer dans le sang et aller agir sur des tissus cibles où elle se lie au récepteur de la vitamine D (VDR) situé dans le cytosol de ces cellules. Ce mécanisme hormonal est la base des effets « classiques » phospho-calciques et osseux de la vitamine D. Il s'agit d'effets génomiques où, une fois qu'il a lié le calcitriol, le VDR s'associe à une autre protéine, le récepteur de l'acide rétinoïque (RXR) et se lie ensuite à l'ADN en des sites spécifiques appelés éléments de réponse à la vitamine D (VDRE), stimulant (ou inhibant) ainsi la synthèse de protéines. Les principaux tissus cibles du calcitriol circulant sont la cellule intestinale où il stimule l'absorption du calcium et du phosphate, l'ostéoblaste où il stimule la synthèse de différentes protéines dont le RANKL et l'ostéocalcine, le rein où il contrôle l'expression dans le tubule distal

Tableau 1. Les principales sources alimentaires de vitamine D (1 μg = 40 UI).

<p>Vitamine D₂ Les sources alimentaires de vitamine D₂ sont très peu nombreuses. Les seules significatives sont les champignons séchés au soleil. Le « champion du monde » est le champignon Shitake séché qui apporte environ 20–25 μg (800–1000 UI) pour 100 g</p> <p>Vitamine D₃</p> <ul style="list-style-type: none"> - Huile de foie de morue : environ 500 μg (20 000 UI) pour 100 mL - Saumon, hareng, ou thon sauvage : 15–25 μg (600–1000 UI) pour 100 g - Saumon d'élevage : 7–10 μg (280–400 UI) pour 100 g - Sardines à l'huile en boîte : environ 7,5 μg (300 UI) pour 100 g - Huîtres : environ 10 μg (400 UI) pour 100 g - Truite : environ 5 μg (200 UI) pour 100 g - Sole : environ 2 μg (80 UI) pour 100 g - Brochet : environ 2 μg (80 UI) pour 100 g - Jaune d'œuf : environ 2–3 μg (80–120 UI) pour 100 g - Foie de veau : environ 0,5 μg (20 UI) pour 100 g - Laitages ou céréales enrichis en vitamine D : 1,25 μg (50 UI) pour 100 g ou 100 mL en général
--

de la protéine TRPV5 nécessaire à la réabsorption du calcium, et les parathyroïdes où il régule la sécrétion de PTH.

On peut noter qu'il existe par ailleurs une voie d'inactivation de la vitamine D *via* la formation de composés hydroxylés sur le carbone 24 grâce à une 24-hydroxylase. L'expression de la 24-hydroxylase dans le tubule proximal est stimulée par le FGF23 et le calcitriol. Son importance a été récemment mise en exergue avec la démonstration que des mutations inactivatrices du gène codant pour cette enzyme (CYP24A1) étaient responsables d'une « hypersensibilité à la vitamine D » à l'origine d'une hypercalcémie sévère et d'une néphrocalcinose (Schlingmann *et al.*, 2011).

De très nombreux tissus n'ayant rien à voir avec le métabolisme phospho-calcique et osseux expriment le VDR, la 1-alpha-hydroxylase et la 24-hydroxylase. La 25OHD pénètre dans ces tissus où elle est transformée en calcitriol qui agit localement après liaison au VDR, hétérodimérisation avec le RXR et liaison à des VDRE. Ce calcitriol produit localement ne ressort probablement pas de la cellule et ne participe donc pas au métabolisme phospho-calcique. Cette production « périphérique » de calcitriol ne semble pas régulée par les hormones calciotropes (la PTH, le FGF23...) mais dépend d'une concentration suffisante de 25OHD dans le liquide extracellulaire de ces tissus. C'est la base des effets génomiques « non-classiques » de la vitamine D qu'on peut qualifier d'intracrines, par opposition aux effets classiques endocrines. On sait maintenant que le calcitriol circulant peut exercer aussi des effets non génomiques sur certains tissus (activation de tyrosines kinases, modification du flux de calcium intracellulaire...) après liaison à des protéines membranaires mal identifiées, probablement un (ou des) variant(s) du VDR (Nemere *et al.*, 1998).

La figure 1 résume les étapes principales du métabolisme de la vitamine D.

Effets « classiques » et « non-classiques » de la vitamine D

Effets « classiques »

Un déficit profond en vitamine D peut causer des pathologies caractérisées par un défaut de minéralisation osseuse, le rachitisme chez l'enfant et l'ostéomalacie chez l'adulte (Holick, 2006). Un déficit moins profond n'entraînera pas de défaut de minéralisation évident mais pourra favoriser une ostéoporose. Dans des études observationnelles, le déficit en vitamine D est associé à des densités minérales osseuses basses et à une augmentation du risque relatif de fractures ostéoporotiques (Looker *et al.*, 2013). La supplémentation en vitamine D (le plus souvent associée à du calcium) réduit le risque de fractures non vertébrales chez les sujets de plus de 65 ans, à condition que les doses de vitamine D soient d'au moins 800 UI par jour (Bischoff-Ferrari *et al.*, 2009a). Enfin, les traitements de fond de l'ostéoporose inhibant la résorption osseuse et en particulier les bisphosphonates, sont moins efficaces en termes d'épargne fracturaire s'ils sont administrés à des patients déficitaires en vitamine D (Adami *et al.*, 2009). Pour toutes ces raisons, corriger un déficit vitamino-calcique est un préalable à la mise sous traitement de fond de l'ostéoporose (Benhamou *et al.*, 2011). Des données expérimentales récentes ont quelque peu modifié notre vision des effets phospho-calciques du métabolite actif de la vitamine D. Grâce à un modèle murin d'inactivation du VDR ciblée uniquement sur l'intestin, il a pu

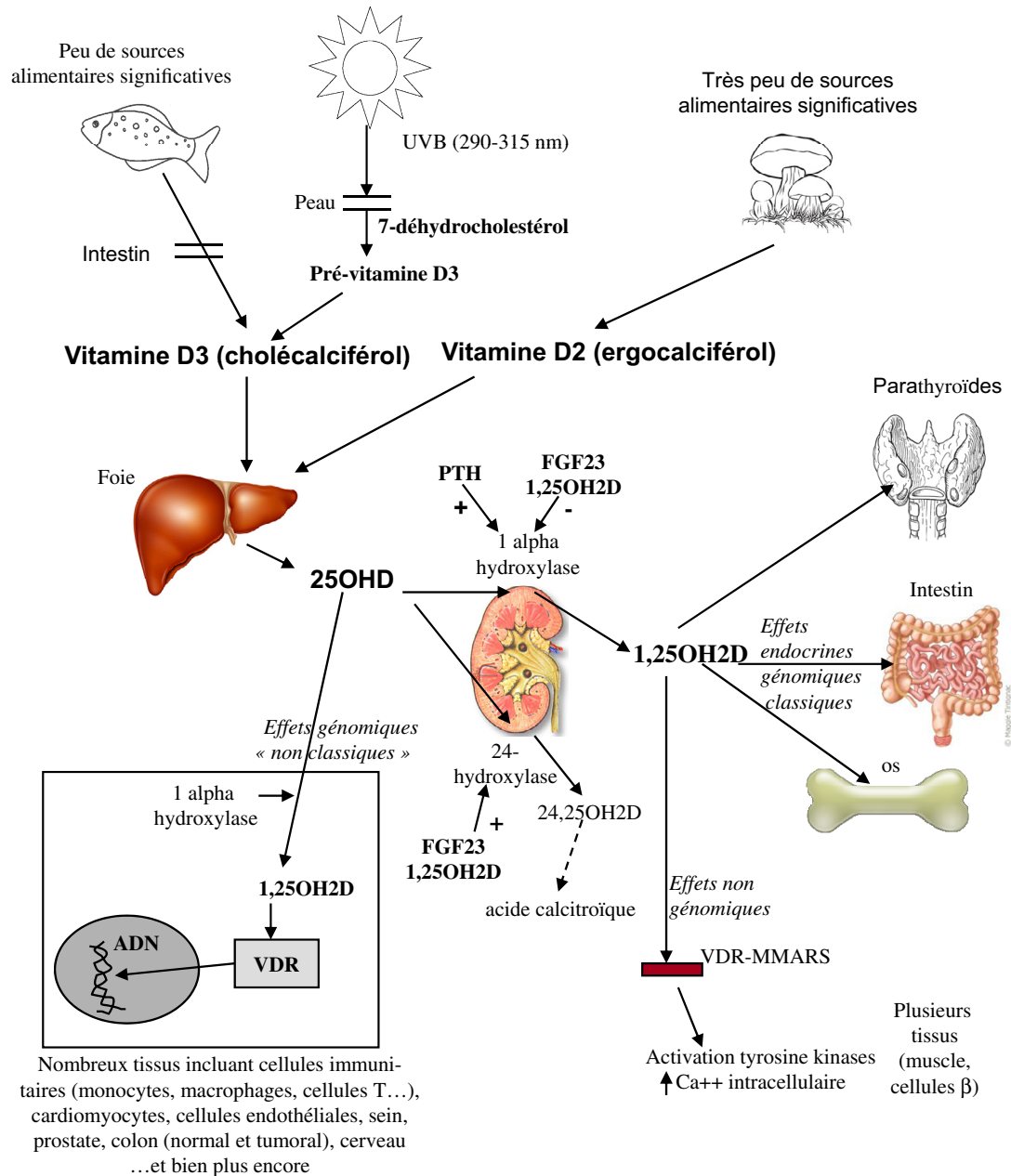


Fig. 1. Résumé du métabolisme de la vitamine D. La vitamine D₂ et la vitamine D₃ sont transportées dans le sang par la DBP. La vitamine D (D₂ ou D₃) est hydroxylée dans le foie pour former la 25OHD dont la concentration sérique représente le statut vitaminique d'un individu. Cette hydroxylation hépatique est très peu régulée et, plus on ingère ou plus on synthétise de la vitamine D, plus on produit de 25OHD. Cette 25OHD est de nouveau hydroxylée pour donner la 1,25OHD_{2D}, le métabolite actif de la vitamine D. Cette seconde hydroxylation peut se faire soit dans les cellules du tubule proximal rénal, soit dans de très nombreux autres tissus. L'hydroxylation rénale, qui est très étroitement régulée par des hormones du métabolisme phospho-calcique comme la PTH ou le FGF23, permet de produire la 1,25OHD_{2D} « hormone » (c'est-à-dire celle qui va passer dans le sang et aller agir sur des tissus cibles où elle se lie au VDR), alors que l'hydroxylation « périphérique » est indépendante de la régulation phospho-calcique et produit de la 1,25OHD_{2D} qui agit localement (de manière « intracrine ») et ne participe pas au métabolisme phospho-calcique. De manière intéressante, la production rénale proximale de 1,25OHD_{2D} est inversement proportionnelle à la concentration de 25OHD circulante du fait d'une hyperparathyroïdie secondaire lorsqu'il existe une « insuffisance » en vitamine D (sauf si il y a trop peu de 25OHD, auquel cas la production de 1,25OHD_{2D} diminue), alors que la production « périphérique » est, elle, proportionnelle à la concentration de 25OHD circulante.

être confirmé que, en situation de balance calcique positive ou équilibrée, la 1,25(OH)₂D stimulait bien l'absorption intestinale du calcium et du phosphate et favorisait la minéralisation osseuse, alors qu'en balance calcique négative, le rôle de la 1,25(OH)₂D était de maintenir la normalité de la calcémie et cela aux dépens de l'os en stimulant la résorption osseuse et en inhibant la minéralisation osseuse (Lieben *et al.*, 2012).

Effets « non-classiques »

De très nombreuses études ont rapporté une association entre le déficit en vitamine D et de nombreuses maladies ou anomalies.

- Le déficit en vitamine D est associé à la sarcopénie chez le sujet âgé. La vitamine D a une action démontrée sur le muscle et un traitement par vitamine D (800 UI/j au moins) associé à du calcium réduit le risque relatif de chute chez les sujets âgés (ce qui peut expliquer en partie la diminution du risque de fractures périphériques) (Bischoff-Ferrari *et al.*, 2009b).

- Un déficit en vitamine D est associé à une augmentation du risque relatif de développer différents cancers, surtout colo-rectaux (Feskanich *et al.*, 2004) et du sein (Garland *et al.*, 2007).

- Un déficit en vitamine D est associé à un risque accru d'événements cardio-vasculaires mais aussi de mortalité cardio-vasculaire (Pilz *et al.*, 2009). Les mécanismes sont complexes et concernent des effets directs de la vitamine D sur les cellules endothéliales vasculaires, mais aussi des effets indirects car la vitamine D contrôle la sécrétion de l'insuline et la sensibilité à l'insuline, diminue l'inflammation, contrôle des protéines impliquées dans la formation de calcifications vasculaires, réduit la sécrétion d'hormone parathyroïdienne, et contrôle le gène de la rénine ce qui lui confère des propriétés anti-hypertensives.

- La vitamine D est un immunomodulateur. Globalement, de nombreuses études expérimentales ont en faveur d'une inhibition de l'immunité acquise et d'une stimulation de l'immunité innée par la vitamine D. Cette inhibition de l'immunité acquise par la 1,25(OH)₂D semble bénéfique dans un certain nombre de pathologies auto-immunes (ou à composante auto-immune) comme la sclérose en plaques, le diabète de type 1, la polyarthrite rhumatoïde, le lupus... (Arnson *et al.*, 2007). La modulation de l'immunité innée suggère des propriétés anti-infectieuses de la vitamine D. On sait maintenant que les macrophages ou les monocytes, exposés à un agent infectieux comme le bacille de la tuberculose, surexpriment le « *Toll-like receptor 2* », le VDR et la 1-alpha hydroxylase. À condition que la concentration de 25OHD dans le

liquide extra-cellulaire soit suffisante, ces cellules vont former de la 1,25(OH)₂D qui va induire la production de peptides « antimicrobiens », en particulier la cathélicidine, que l'on peut considérer comme des antibiotiques naturels, et qui vont contribuer à détruire l'agent infectieux (Liu *et al.*, 2006).

- Le déficit en vitamine D en début de grossesse a été associé à un risque accru de prééclampsie (Bodnar *et al.*, 2007) et de diabète gestationnel (Poel *et al.*, 2012).

- Chez l'insuffisant rénal non dialysé, le déficit en vitamine D est associé à une progression plus rapide de la maladie rénale (Bienaimé *et al.*, 2013).

- Plus globalement, le déficit en vitamine D est associé à une mortalité plus précoce dans différentes études observationnelles prospectives (Zitterman *et al.*, 2012), mais aussi interventionnelles (Autier & Gandini, 2007).

Ces effets classiques et non classiques de la vitamine D dépendent en partie des spécificités génétiques des individus. Il existe en effet différents polymorphismes du VDR et de la 1- α -hydroxylase ayant potentiellement des conséquences sur les actions du calcitriol, ou la capacité à synthétiser ce métabolite.

Niveau de preuves

« Association » ne veut toutefois pas dire « causalité », et en dehors de la réduction des chutes qui est documentée par plusieurs études d'intervention positives qui ont fait l'objet de méta-analyses, les autres effets « non-classiques » de la vitamine D mentionnés ci-dessus sont surtout étayés sur des observations et des études expérimentales. Il existe toutefois, en plus des essais montrant une diminution du risque de chutes et de fractures non vertébrales, des essais contrôlés récents (une cinquantaine, sans compter les travaux, très nombreux, au cours desquels l'administration de vitamine D a fait baisser la PTH et/ou les marqueurs biologiques du remodelage osseux), qui ont montré des effets bénéfiques sur le risque relatif de cancer (Lappe *et al.*, 2007), et sur des paramètres intermédiaires associés à la « santé cardio-vasculaire » (réduction de la concentration de cytokines pro-inflammatoires) (Schleithoff *et al.*, 2006). Ont également été relevés des paramètres biologiques témoignant de la résistance à l'insuline chez des patients intolérants au glucose (Mitri *et al.*, 2011), des effets sur la pression artérielle chez des patients hypertendus (Whitam *et al.*, 2009), ou encore sur la rigidité artérielle (Dong *et al.*, 2010), sur la douleur (Wepner *et al.*, 2014) ou sur certaines pathologies infectieuses (Urashima *et al.*, 2010; Camargo *et al.*, 2012) ou leurs complications (Nimer & Mouch, 2012). Les résultats de ces études ne sont toutefois pas obligatoirement transposables à la population générale et de grands essais d'intervention

Tableau 2. Paramètres et conditions à contrôler pour une évaluation efficace des effets de la vitamine D dans des études d'intervention contrôlées contre placebo.

<p><i>Conditions permettant d'optimiser la puissance statistique (conditions communes aux essais de médicaments et de nutriments)</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - La taille de l'échantillon et la durée de l'essai doivent être calculées de manière appropriée en fonction de la fréquence de l'événement étudié dans la population recrutée. Elles dépendent de l'état clinique de base des patients (échantillon plus grand et/ou durée plus longue si la maladie étudiée est peu active chez les patients recrutés) - L'adhérence/observance doit être optimisée (les nouvelles technologies permettent de rappeler aux patients l'importance de prendre bien le traitement auquel ils ont été assignés) <p><i>Conditions particulières à un essai avec la vitamine D</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Privilégier la vitamine D₃ par rapport à la vitamine D₂ - S'assurer que les apports calciques des patients sont corrects - Administrer des doses journalières ou des doses « espacées ». Si le choix se porte sur des doses espacées, les doses ne doivent pas être trop fortes (<ou = 100 000 UI) et pas trop espacées (idéalement <ou = à 1 mois) - Le choix de la dose à administrer dépendra de la pathologie à étudier (voir dans la littérature). La dose devra être au moins égale à 800 UI/jour (souvent plus) - Les éventuels suppléments de vitamine D pris par les patients avant l'étude devront être arrêtés - Il sera important de recruter des patients ayant des taux bas de 25OHD (en tous cas des taux bien inférieurs aux concentrations qui seront ciblées dans l'étude) afin d'observer une franche élévation de ce paramètre biologique d'une part, et d'avoir un groupe placebo « déficitaire » d'autre part.

restent donc nécessaires. Par ailleurs, de nombreuses autres expériences n'ont pas montré d'effets bénéfiques et seulement deux d'entre elles, où de très fortes doses (500 000 UI de vitamine D₃ par voie orale (Sanders *et al.*, 2010) et 300 000 UI en intramusculaire (Smith *et al.*, 2007) ont été administrées annuellement), ont rapporté des résultats plus mauvais dans le groupe traité par vitamine D que dans le groupe placebo.

Les raisons possibles des discordances entre ces différentes études d'intervention sont multiples. Parmi les plus fréquemment citées, on retiendra l'utilisation fréquente de doses trop faibles, une mauvaise observance et l'inclusion de patients non déficients en vitamine D. Il faut reconnaître que l'analyse en intention de traiter des essais d'intervention regroupés en méta-analyses conclut à une absence d'effets de la vitamine D sur ces cibles « non-classiques » (c'est-à-dire en excluant les effets sur les fractures, les chutes et le métabolisme phospho-calcique) ou tout du moins à des effets mineurs (Bouillon *et al.*, 2013) en dehors d'une diminution de la mortalité (Bjelakovic *et al.*, 2014) d'autant plus significative que la supplémentation en vitamine D était longue (>3 ans) (Zheng *et al.*, 2013) et associée à du calcium (Rejnmark *et al.* 2012), ce qui, reconnaissons-le, n'est déjà pas si mal. L'analyse en intention de traiter, nécessaire à une évaluation fiable des médicaments selon le concept de l'*evidence-based medicine*, ne devrait toutefois pas obligatoirement s'appliquer systématiquement à l'évaluation des effets de la vitamine D (ou de n'importe quel autre nutriment), ou, tout du moins, devrait être adaptée.

En effet, contrairement à un médicament dont la concentration sanguine est, par définition égale à zéro au début d'un essai clinique, la concentration sérique de 25OHD des participants à un essai est variable et dépend de nombreux facteurs. Par ailleurs, en plus des doses de vitamine D que les participants reçoivent dans le cadre de l'essai, les apports exogènes (alimentation, mais surtout synthèse cutanée) peuvent être significatifs. Cela dit, les essais contrôlés resteront le « *gold standard* » et il semble donc important de définir des conditions pour ces études permettant d'éviter au mieux les biais d'interprétation (voir le tableau 2 pour une tentative de liste).

Valeurs « normales » de 25OHD (définition de l'insuffisance en vitamine D)

Comme indiqué plus haut, le paramètre biologique qui définit le statut vitaminique D est la concentration sérique de 25OHD (mais surtout pas la concentration de calcitriol). Ceci est un consensus.

Le mode d'établissement des valeurs de référence utilisé pour la majorité des paramètres biologiques (recruter une population apparemment en bonne santé, doser le paramètre à évaluer et définir un intervalle dans lequel on retrouve 95 % des valeurs mesurées) ne s'applique pas à la 25OHD. On devrait en effet définir dans ce cas (par exemple) des « normes » d'été et des « normes » d'hiver, la 25OHD étant, à nos latitudes, significativement plus basse en hiver qu'en été. Il s'agit plutôt de déterminer les concentrations de 25OHD

au-dessous et au-dessus desquelles il peut exister des effets délétères d'un manque ou d'un excès de vitamine D, ou bien les concentrations de 25OHD pour lesquelles on profitera au mieux des effets bénéfiques de la vitamine D en se basant le plus possible sur les études d'intervention. On parlera pour la 25OHD de valeurs « souhaitables » ou « recommandées » plutôt que de valeurs « normales » ou « de référence ». Différents seuils pour ces valeurs « souhaitables » ont été proposés par des groupes d'experts ou des sociétés savantes dans le cadre de recommandations pour la prise en charge du déficit en vitamine D. Il est important de faire la différence entre les recommandations qui concernent la population générale et celles qui concernent la prise en charge des patients.

Pour ce qui est de la prise en charge des patients, en particulier ceux porteurs d'une maladie osseuse, rénale, ou phospho-calcique, de nombreux experts considèrent qu'une concentration <20 ng/mL (soit 50 nmol/L) correspond à un déficit en vitamine D (c'est-à-dire ce qu'il faut éviter chez tout le monde) et qu'une concentration de 20 à 30 ng/mL (soit 50–75 nmol/L) correspond à une insuffisance en vitamine D (c'est-à-dire ce qu'il faut éviter pour – au moins – un certain nombre de patients) (Vieth, 2004; Dawson-Hughes *et al.*, 2005, 2010; Bischoff-Ferrari *et al.*, 2006; Adams & Evison, 2010; Hanley *et al.*, 2010; Benhamou *et al.*, 2011; Holick *et al.*, 2011; Perez-Lopez *et al.*, 2012). Cette valeur seuil de 30 ng/mL était basée initialement sur la relation entre la 25OHD et la PTH retrouvée dans des populations en bonne santé apparente (concentration de 25OHD au-dessous de laquelle la PTH peut s'élever). Il faut cependant souligner que les différents travaux qui ont porté sur cette relation ont abouti à des conclusions quelque peu discordantes (Aloia *et al.*, 2006). En effet, la sécrétion de PTH est avant tout influencée par la calcémie ionisée et, si elle est bien dépendante du statut en vitamine D, elle dépend également de nombreux autres facteurs comme les apports calciques, l'absorption digestive du calcium, le statut en magnésium ou la fonction rénale. Cette valeur de 30 ng/mL est toutefois cohérente avec un travail récent où un défaut de minéralisation osseuse détecté sur des biopsies osseuses (augmentation du volume ostéoïde) était retrouvé pour des concentrations de 25OHD jusqu'à 30 ng/mL (Priemel *et al.*, 2010), ainsi qu'avec une autre étude récente où, après administration de vitamine D, la PTH a baissé chez les patients dont le taux initial de 25OHD était <28 ng/mL (Okasaki *et al.*, 2011). Elle est également compatible avec les concentrations de 25OHD retrouvées dans les groupes « vitamine D » des essais cliniques qui ont démontré un effet positif de la vitamine D par rapport à un placebo pour diminuer le risque relatif de fractures (Bischoff-Ferrari *et al.*, 2009a) et de chutes

(Bischoff-Ferrari *et al.*, 2009b). Enfin, cette valeur est associée à une meilleure efficacité anti-fracturaire des traitements de fond de l'ostéoporose et en particulier des bisphosphonates (Carmel *et al.*, 2012).

Pour ce qui concerne la population générale, l'*Institute of Medicine* nord-américain (IOM) considère qu'une concentration de 20 ng/mL (50 nmol/L) est largement suffisante chez des sujets en bonne santé (Ross *et al.*, 2011). Il faut comprendre que ce seuil de 20 ng/mL n'est pas une valeur à atteindre ou à contrôler avec un dosage sanguin de la 25OHD, mais est plutôt proposé pour définir des apports journaliers recommandés (quels apports de vitamine D permettent d'atteindre une concentration de 25OHD supérieure à 20 ng/mL chez environ 95 % de la population générale?). Il n'est donc pas question de doser la 25OHD chez tout le monde.

En fait, toutes les études épidémiologiques montrent que, quel que soit le seuil choisi pour définir l'insuffisance en vitamine D (20 ou 30 ng/mL), celle-ci est très fréquente dans la population générale (Mithal *et al.*, 2009) et que le statut vitaminique D est dépendant de nombreux facteurs environnementaux et génétiques (tableau 3). Une étude publiée dans le cadre du programme national Nutrition-Santé (ENNS) montre qu'en France, en population générale, environ 80 % des participants ont une concentration sérique de 25OHD <30 ng/mL et presque la moitié une concentration <20 ng/mL (Vernay *et al.*, 2012). On réserve en général le terme de « carence » (c'est-à-dire la possibilité d'apparition de maladies aiguës dues à un déficit profond en vitamine D : le rachitisme ou l'ostéomalacie) pour des concentrations de 25OHD <10 – 12 ng/mL (Holick, 2006).

La limite supérieure acceptable aujourd'hui pour définir un statut vitaminique D satisfaisant se situe entre 60 et 80 ng/mL. Cette zone correspond en effet aux concentrations maximales retrouvées chez des populations qui s'exposent généreusement à un soleil apportant des UVB toute l'année (par exemple chez les Massaïs, une minorité vivant en permanence sur les hauts plateaux tanzaniens ou kenyans, proches de l'équateur, qui ont une concentration moyenne de 25OHD de 46 ng/mL avec des extrêmes compris entre 25 et 75 ng/mL (Luxwolda *et al.*, 2012). Elle est par ailleurs suffisamment éloignée de la concentration minimale associée à une possible intoxication à la vitamine D (150 ng/mL) (Hathcock *et al.*, 2007). Il faut aussi souligner le fait que dans de très rares études observationnelles, la relation entre concentration de 25OHD et risque relatif de la maladie étudiée était au mieux représentée par une courbe en U (ou en J inversé) ce qui veut dire un risque plus élevé pour les valeurs basses, mais aussi pour les valeurs élevées, avec une augmentation du risque pour des

Tableau 3. Facteurs environnementaux influençant le statut vitaminique D.

	Les études épidémiologiques montrent que la concentration sérique de 25OHD est en général plus basse :
Âge	Chez les sujets âgés que chez les jeunes
Pigmentation	Chez les sujets à la peau foncée que chez les sujets à la peau claire
Sexe	Chez les femmes que chez les hommes
Masse grasse	Chez les obèses ou les sujets en surpoids que chez les « maigres »
Habitudes vestimentaires	Chez les sujets qui portent des vêtements couvrants
Temps passé en extérieur	Chez les sujets qui ont très peu d'activité en « extérieur »
Politiques de supplémentation	Dans les pays où l'alimentation n'est pas supplémentée
Saison	En hiver
Latitude	Dans les pays situés loin de l'équateur

concentrations à partir de 50 ng/mL (Tuohimaa *et al.*, 2004; Stolzenberg-Salomon *et al.*, 2010).

Doit-on doser la 25OHD avant de traiter, et si oui, chez qui ?

Le nombre considérable d'articles sur la vitamine D publiés récemment a attisé l'intérêt de la communauté médicale et scientifique avec, parmi les conséquences, une augmentation très importante du nombre de dosages de vitamine D prescrits en pratique clinique. Comme ces dosages sont remboursés par l'assurance maladie (B42, soit 11,34 euros en avril 2014), il est légitime d'évaluer si ces prescriptions sont réellement justifiées.

Il existe un certain nombre de recommandations, parfois discordantes, issues de sociétés savantes définissant les indications du dosage de 25OHD. Parmi les recommandations dirigées vers la prise en charge des patients, certaines sont restrictives et limitent les indications alors que d'autres suggèrent une liste plus longue de situations où il faut doser la 25OHD. Il existe toutefois un socle commun de situations où le dosage est recommandé par tous les experts.

On peut proposer de doser la 25OHD chez les patients ayant une maladie (ou une anomalie) pour laquelle une concentration cible de 25OHD est définie avec un niveau de preuves suffisant.

La notion de niveau de preuves suffisant peut être soumise à controverse. Elle signifie pour moi un niveau de 25OHD basé sur les concentrations mesurées dans les groupes ayant reçu de la vitamine D dans des essais d'intervention contrôlés qui ont montré des effets positifs (résultats meilleurs dans le groupe vitamine D

que dans le groupe placebo). Il faut reconnaître que ce type d'information n'est réellement disponible que pour les effets musculo-squelettiques (effet sur les chutes et les fractures non vertébrales) et phosphocalciques (contrôle de la calcémie/phosphatémie et de la sécrétion de PTH) de la vitamine D. Dans ces situations, la concentration cible minimale de 30 ng/mL (75 nmol/L) s'applique selon les experts (Vieth, 2004; Dawson-Hughes *et al.*, 2005; Bischoff-Ferrari *et al.*, 2006; Adams & Evison, 2010; Hanley *et al.*, 2010; Benhamou *et al.*, 2011; Holick *et al.*, 2011; Perez-Lopez *et al.*, 2012). Il s'agit des patients ayant :

- Un rachitisme ou une ostéomalacie;
- Une ostéoporose (avec ou sans fracture);
- Un risque accru d'ostéoporose (ou de perte osseuse accélérée) car ils reçoivent des traitements potentiellement délétères pour l'os comme par exemple des corticoïdes au long cours, des anti-aromatases chez des femmes ayant eu un cancer du sein ou un analogue de la GnRH chez des patients ayant eu un cancer de la prostate.
- Un risque accru d'ostéoporose (ou de perte osseuse accélérée) car ils ont une malabsorption (maladie coeliaque, mucoviscidose, maladie de Crohn, *etc.*)
- Une chirurgie de l'obésité et en particulier un *bypass* gastrique. Les obèses sont très fréquemment déficitaires en vitamine D mais n'ont en général pas d'ostéoporose. Cependant après *bypass* gastrique, on observe en général une perte osseuse accélérée. Ces patients cumulent deux causes de déficit en vitamine D : (1) même s'ils ont perdu 50 kg, ils sont très souvent encore obèses et séquestrent donc une partie de leur vitamine D dans leur masse grasse, et (2) ils ont un certain degré de malabsorption dû à l'acte chirurgical

lui-même et peuvent présenter un défaut d'absorption de la vitamine D mais aussi du calcium.

- Une insuffisance rénale chronique (IRC) aux stades 3b-5 (c'est-à-dire avec un DFG <45 mL/mn/1,73 m²), mais aussi les patients dialysés et ceux ayant bénéficié d'une transplantation rénale. Doser la 25OHD chez les IRC et corriger un éventuel déficit comme on le fait en population générale est une recommandation des derniers *guidelines* pour la prise en charge des anomalies du métabolisme osseux et minéral des IRC (KDIGO, 2009). Une hyperparathyroïdie secondaire est très fréquente dans l'IRC avec un certain nombre de conséquences néfastes. Il faut rappeler que, jusqu'à une période récente, les néphrologues étaient habitués à traiter leurs patients par des dérivés actifs de la vitamine D (des analogues du calcitriol) et non par de la vitamine D « native » pour contrôler la sécrétion de PTH. Ils pensaient en effet qu'en raison de la baisse (ou de l'absence) de fonctionnalité du rein, la vitamine D native ne pouvait pas être activée en calcitriol. Des études récentes ont montré qu'une supplémentation par vitamine D₂ ou D₃ permettait de faire baisser modestement mais significativement la PTH des IRC, y compris chez les dialysés (Jean *et al.*, 2009) et les transplantés rénaux (Courbebaisse *et al.*, 2009). Par ailleurs, plusieurs études prospectives observationnelles et quelques-unes d'intervention ont associé le déficit en vitamine D à un excès de mortalité chez les IRC dialysés ou non (Pilz *et al.*, 2011), à une diminution accélérée du DFG (Bienaimé *et al.*, 2013), et à un excès d'albuminurie (Kim *et al.*, 2011). Les choses ont donc changé et la supplémentation en vitamine D des IRC est devenue une pratique courante.
- Une hyperparathyroïdie primitive. Si ces patients sont très souvent déficitaires en vitamine D et ostéoporotiques, ils sont aussi hypercalcémiques. Administrer à des patients hypercalcémiques un produit qui augmente l'absorption de calcium et qui, lorsqu'il est administré à des doses extrêmement fortes peut induire une hypercalcémie, une hypercalciurie et des calcifications extra-squelettiques, a longtemps été considéré avec suspicion par le corps médical. Il a été montré en 2005 que l'administration de doses relativement fortes de vitamine D₃ (50 000 UI par semaine pendant un mois puis 50 000 UI par mois les 11 mois suivants) à des patients ayant une hyperparathyroïdie primitive et une calcémie <3 mmol/L n'avait pas fait augmenter la calcémie ou la phosphatémie et avait permis de faire baisser la concentration de PTH d'environ 30 % (Grey *et al.*, 2005). Cette étude princeps a été suivie par d'autres rapportant des résultats similaires

(Souberbielle *et al.*, 2010) et, très récemment par un essai contrôlé contre placebo confirmant ces résultats (Rolighed *et al.*, 2014), si bien que le groupe d'experts qui a rédigé les dernières recommandations sur la prise en charge de l'hyperparathyroïdie primitive asymptomatique recommande de traiter par vitamine D tous les patients hyperparathyroïdiens qui sont aussi déficitaires en vitamine D (Eastell *et al.*, 2009). Il est également recommandé de supplémenter tous ces patients en vitamine D (et calcium si besoin) après parathyroïdectomie afin d'éviter le « *hungry bone syndrome* » d'une part et d'améliorer leur densité osseuse d'autre part (Souberbielle *et al.*, 2010).

- Chez les patients qui ont une granulomatose et en particulier une sarcoïdose, il est conseillé de maintenir la concentration de 25OHD entre 15 et 20 ng/mL afin d'éviter d'une part les risques d'hypercalcémie due à une synthèse non contrôlée de calcitriol et d'autre part un déficit sévère en vitamine D, fréquent chez ces patients en raison de la peur d'induire une hypercalcémie.

On peut aussi conseiller de doser la vitamine D chez ceux présentant des symptômes persistants et compatibles avec un déficit profond en vitamine D (par exemple douleurs musculaires diffuses, sujets âgés faisant des chutes à répétition sans explication...) ou une intoxication à la vitamine D (par exemple calcifications extra-squelettiques, néphrocalcinose ou lithiase rénale à répétition) ainsi que chez ceux recevant un traitement connu pour modifier le métabolisme de la vitamine D (certains anticonvulsivants et barbituriques comme le phénobarbital ou anti-fongiques comme le kétokonazole). Chez ces patients il n'y a pas de cible particulière à recommander mais il est logique de considérer que pour des concentrations entre 20 et 60 ng/mL la probabilité pour que la vitamine D soit impliquée dans ces symptômes est extrêmement faible.

Enfin, et plus généralement, le dosage de la 25OHD est utile pour n'importe quel patient chez qui une exploration du métabolisme phospho-calcique incluant au moins la calcémie, la phosphatémie et la PTH est prescrite quelle qu'en soit la raison. La concentration de 25OHD sera particulièrement importante lorsqu'une concentration élevée de PTH sera détectée en présence d'une calcémie normale. Elle permettra d'aider à différencier une hyperparathyroïdie secondaire (dont l'une des causes les plus fréquentes est le déficit en vitamine D) d'une hyperparathyroïdie primitive normo-calcémique (Lowe *et al.*, 2007).

Traitement par la vitamine D en pratique

Comme on l'a vu plus haut, l'insuffisance en vitamine D est très fréquente. Pour maintenir une concentration de 25OHD au-dessus de 20 ng/mL, les

recommandations de l'IOM sont de consommer 600 UI par jour quand on a moins de 70 ans et 800 UI par jour quand on a plus de 70 ans (Ross *et al.*, 2011). Cependant, beaucoup parmi les experts considèrent que ces recommandations sont trop faibles (Heaney & Holick, 2007), ce qui est confirmé par une étude récente de méta-régression montrant que pour que 95 % de la population ait une concentration de 25OHD >20 ng/mL, 1000 UI par jour environ sont nécessaires (Cashman *et al.*, 2011). Les experts de l'*Endocrine Society* (Holick *et al.*, 2011) considèrent que les besoins moyens pour maintenir une concentration de 25OHD >30 ng/mL sont de 1500 à 2000 UI/J (ce qui veut dire qu'environ la moitié de la population a une concentration <30 ng/mL avec ces apports). En France, les apports journaliers recommandés (AJR) sont toujours de 200 UI/J et les apports nutritionnels conseillés (ANC) pour les adultes sont de 400 UI/J au-dessous de 70 ans et 600 UI/J au-dessus. L'étude de l'ENNS citée plus haut montre que les apports moyens en population générale française sont de 92 UI/J (Vernay *et al.*, 2012). Il y a donc de vraies raisons pour augmenter la consommation de vitamine D en France. Cela peut se faire par une modification des politiques de supplémentation (modalités à définir consensuellement) ou/et par le traitement médicamenteux.

Si la voie médicamenteuse est choisie, différentes études publiées récemment permettent d'établir un certain nombre de règles pour le traitement par vitamine D.

Peut-on utiliser indifféremment de la vitamine D₂ et de la vitamine D₃ ?

Lorsqu'on prescrit des doses « espacées », il est maintenant clair que la vitamine D₃ est supérieure à la vitamine D₂. En effet, la demi-vie de la 25OHD₃ est nettement plus longue que celle de la 25OHD₂, ce qui permet de maintenir un statut vitaminique D satisfaisant plus longtemps (Armas *et al.*, 2004). Lorsque le traitement est prescrit en doses journalières, il n'y a pas de données suffisamment solides aujourd'hui pour favoriser la vitamine D₃ par rapport à la vitamine D₂ (Holick *et al.*, 2008)

Peut-on prescrire indifféremment un traitement journalier et des doses « espacées » ?

Alors qu'un traitement journalier peut paraître plus physiologique, un traitement « espacé » peut permettre de favoriser l'adhérence. Une attitude pragmatique peut être de faire choisir les patients en leur expliquant les avantages et inconvénients des deux types de traitement. Dans notre expérience, environ 85 % des patients préfèrent des doses « espacées » et donc

environ 15 % optent pour un traitement journalier (le plus souvent par peur d'oublier les doses espacées). Ce qui est maintenant bien accepté, c'est que si on choisit un traitement intermittent, il ne faut pas trop espacer les prises et qu'elles ne soient pas trop fortes. En effet, dans un essai d'intervention contrôlé récent, des patientes ayant reçu une dose annuelle de 500 000 UI de vitamine D₃ pendant 3 ans ont fait plus de chutes et de fractures que les patientes ayant reçu le placebo (Sanders *et al.*, 2010). Même si les raisons ne sont pas claires, ce précédent a modifié les pratiques. En termes de maintien d'une concentration stable de 25OHD, nous avons la démonstration qu'une dose mensuelle de vitamine D₃ et le 1/30^{ème} de cette dose administré tous les jours aboutissent à la même concentration de 25OHD (par exemple 1500 UI par jour *versus* 45 000 UI par mois (Ish-Shalom *et al.*, 2008)). Pour des intervalles plus longs entre chaque prise, les fluctuations de la 25OHD sérique deviennent significatives et sont d'autant plus importantes que l'espacement entre les doses est important.

Donc, en cas de traitement intermittent, il est conseillé de ne pas donner des doses trop fortes et trop espacées. Si, par exemple, on choisit une posologie de 1500 à 2000 UI par jour de vitamine D comme le recommande l'*Endocrine Society* (Holick *et al.*, 2011), on peut proposer 100 000 UI de vitamine D₃ tous les deux mois, 80 000 UI toutes les 6 semaines ou, mieux encore lorsque cette posologie sera disponible en France, 50 000 UI tous les mois.

Conclusion

L'insuffisance en vitamine D est une situation très fréquente qui est associée à un risque augmenté de développer de nombreuses maladies, pas seulement osseuses. La supplémentation en vitamine D permet de réduire le risque relatif de fractures non vertébrales chez les sujets de plus de 60 ans, et de chutes chez les sujets âgés. Les autres effets potentiels de la vitamine D sont surtout documentés par des études observationnelles et expérimentales, même si des résultats positifs, principalement sur des critères « intermédiaires », ont été démontrés récemment dans un certain nombre d'études d'intervention relativement restreintes en ce qui concerne le nombre de cas pris en compte.

Bien que de très nombreux experts soient en faveur d'une telle mesure, la question du « niveau de preuves » pour proposer une large supplémentation par la vitamine D ou tout du moins une augmentation des AJR/ANC peut donc se poser. Après tout, nous connaissons des exemples relativement récents où plusieurs études observationnelles qui étaient en faveur d'un effet favorable d'une vitamine ou d'une hormone

sur le risque de certaines pathologies ont été démenties par les études d'intervention. On pense par exemple au bêta-carotène dont plusieurs études observationnelles suggéraient qu'il pouvait réduire le risque de cancer, alors que les études d'intervention ont montré au contraire que ceux qui avaient reçu le produit avaient un risque relatif de cancer plus élevé que ceux qui avaient reçu le placebo (Omenn *et al.*, 1996). Le problème est cependant différent pour la vitamine D. En effet, ces études avec le bêta-carotène ont utilisé des doses très largement supra-physiologiques alors que la majorité des essais avec la vitamine D n'ont pas permis d'atteindre les concentrations sériques de 25OHD des sujets qui ont un « plein accès » à la source principale de vitamine D (par exemple des sujets en bonne santé vivant en permanence en zone intertropicale et s'exposant au soleil).

Conflits d'intérêt L'auteur déclare n'avoir aucun conflit d'intérêt direct en rapport avec ce texte.

Il a écrit un livre sur la vitamine D commandé par la société DiaSorin (fabricant de réactifs pour dosages de métabolites de la vitamine D) et a effectué des prestations ponctuelles (EPU, conférences) pour les laboratoires Roche Diagnostics, DiaSorin, Abbott, Novartis santé famille, Shire, Amgen, Lilly, MSD. Aucune promotion des produits commercialisés par ces différents sponsors n'est apparue, ni dans ce livre, ni dans aucune des prestations ponctuelles déclarées.

Références

- Adami S., Giannini S., Bianchi L., Sinigaglia L., Di Munno O., Fiore C.E., Minisola S., Rossini M., Vitamin D status and response to treatment in post-menopausal osteoporosis. *Osteoporos Int*, 2009, 20, 239–244.
- Adams J., Hewison M., Update in vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010, 95, 471–478.
- Aloia J., Talwar S., Pollack S., Feuerman M., Yeh J.K., Optimal vitamin D status and serum parathyroid hormone concentrations in African American women. *Am J Clin Nutr*, 2006, 84, 602–609.
- Armas L.A.G., Hollis B.W., Heaney R.P., Vitamin D₂ is much less effective than vitamin D₃ in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89, 5387–5391.
- Arnsom Y., Amital H., Shoenfeld Y. Vitamin D and autoimmunity: new aetiological and therapeutic considerations. *Ann Rheum Dis*, 2007, 66, 1137–1142.
- Autier P., Gandini S., Vitamin D supplementation and total mortality: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med*, 2007, 167, 1730–1737.
- Benhamou C.L., Souberbielle J.C., Cortet B., Fardellone P., Gauvain J.B., Thomas T. La vitamine D chez l'adulte: recommandations du GRIO. *Presse Med*, 2011, 40, 7–16.
- Bienaimé F., Girard D., Anglicheau D., Canaud G., Souberbielle J.C., Kreis H., Noël L.H., Friedlander G., Elie C., Legendre C., Prié D., Vitamin D, renal function and outcome in renal transplantation. *J Am Soc Nephrol*, 2013, 24, 831–841.
- Bischoff-Ferrari H., Giovannucci E., Willett W., Dietrich T., Dawson-Hughes B., Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple outcomes. *Am J Clin Nutr*, 2006, 84, 18–28.
- Bischoff-Ferrari H., Dawson-Hughes B., Staehelin H.B., Orav J.E., Stuck A.E., Theiler R., Wong J.B., Egli A., Kiel D.P., Henschkowski J., Fall prevention with supplemental and active forms of vitamin D: a meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ*, 2009a, 339, b3692.
- Bischoff-Ferrari H., Willett W., Wong J., Stuck A.E., Staehelin H.B., Orav E.J., Thoma A., Kiel D.P., Henschkowski J., Prevention of nonvertebral fractures with oral vitamin D and dose dependency. *Arch Int Med*, 2009b, 169, 551–561.
- Bjelakovic C., Glud L.L., Nikolova D., Whitfield K., Wettterslev J., Simonetti R.G., Bjelakovic M., Glud C., Vitamin D supplementation for prevention of mortality in adults (Review). *Cochrane Database Syst Rev*, 2014, Issue 1, DOI: 10.1002/14651858.CD007470.
- Bodnar L., Catov J., Simham H., Holick M.F., Powers R.W., Roberts J.M., Maternal vitamin D deficiency increases the risk of preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92, 3517–3522.
- Bouillon R., Van Schoor N.M., Gielen E., Boonen S., Mathieu C., Vanderschueren D., Lips P., Optimal vitamin D status: a critical analysis on the basis of evidence-based medicine. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013, 98, E1283–1304.
- Camargo C., Ganmaa D., Frazier L., Kirchberg F.F., Stuart J.J., Kleinman K., Sumerzul N., Rich-Edwards J.W., Randomized trial of vitamin D supplementation and risk of acute respiratory infection in Mongolia. *Pediatrics*, 2012, 130, 561–567.
- Carmel A., Shieh A., Bang H., Blockman R., The 25(OH)D level to maintain a favourable bisphosphonate response is >33 ng/mL. *Osteoporos Int*, 2012, 23, 2479–2487.
- Cashman K., Fitzgerald A., Kiely M., Seamans K.M. A systematic review and meta-regression analysis of the vitamin D intake-serum 25-hydroxyvitamin D relationship to inform European recommendations. *Br J Nutr*, 2011, 106, 1638–1648.
- Courbebaisse M., Thervet E., Souberbielle J.C., Zuber J., Eladari D., Martinez F., Mamzer-Bruneel M.F., Urena P., Legendre C., Friedlander G., Prié D., Effects of vitamin D supplementation on the calcium-phosphate balance in renal transplant patients. *Kidney Int*, 2009, 75, 646–651.
- Dawson-Hughes B., Heaney R., Holick M., Lips P., Meunier P.J., Vieth R., Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporos Int*, 2005, 16, 713–716.
- Dawson-Hughes B., Mithal A., Bonjour J.P., Boonen S., Burckhardt P., Fuleihan G.E., Josse R.G., Lips P., Morales-Torres J., Yoshimura N., IOF position

- statements: vitamin D recommendations for older adults. *Osteoporos Int*, 2010, 21, 1151–1154.
- Dong Y., Stallmann-Jorgensen I.S., Pollock N.K., Harris R.A., Keeton D., Huang Y., Li K., Bassali R., Guo D.H., Thomas J., Pierce G.L., White J., Holick M.F., Zhu H., A 16-week randomized clinical trial of 2000 international units daily vitamin D₃ supplementation in black youth: 25-hydroxy vitamin D, adiposity, and arterial stiffness. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010, 95, 4584–4591.
- Eastell R., Arnold A., Brandi M.L., Brown E.M., D'Amour P., Hanley D.A., Rao D.S., Rubin M.R., Goltzman D., Silverberg S.J., Marx S.J., Peacock M., Mosekilde L., Bouillon R., Lewiecki E.M., Diagnosis of asymptomatic primary hyperparathyroidism: proceedings of the third international workshop. *J Clin Endocrinol Metab*, 2009, 94, 340–350.
- Feskanich D., Ma J, Fuchs C.S., Kirkner G.J., Hankinson S.E., Hollis B.W., Giovannucci E.L., Plasma vitamin D metabolites and risk of colorectal cancer in women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2004, 13, 1502–1508.
- Garland C.F., Gorham E.D., Mohr S.B., Grant W.B., Giovannucci E.L., Lipkin M., Newmark H., Holick M.F., Garland F.C., Vitamin D and prevention of breast cancer: pooled analysis. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2007, 103, 708–711.
- Grey A., Lucas J., Horne A., Gamble G., Davidson J.S., Reid I.R., Vitamin D repletion in patients with primary hyperparathyroidism and coexistent vitamin D insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005, 90, 2122–2126.
- Hanley D., Cranney A., Jones G., Whiting S.J., Leslie W.D., Cole D.E., Atkinson S.A., Josse R.G., Feldman S., Kline G.A., Rosen C., Vitamin D in adult health and disease: a review and guideline statement from Osteoporosis Canada. *CMAJ*, 2010, 182, E610–E618.
- Hathcock J., Shao A., Vieth R., Heaney R., Risk assessment for vitamin D. *Am J Clin Nutr*, 2007, 85, 6–18
- Heaney R., Holick M., Why the IOM recommendations for vitamin D are deficient. *J Bone Miner Res*, 2011, 26, 455–457.
- Holick M., Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *J Clin Invest*, 2006, 116, 2062–2072
- Holick M., Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*, 2007, 357, 266–281.
- Holick M., Chen T., Lu Z., Sauter E., Vitamin D and skin physiology : a D-lightful story. *J Bone Miner Res*, 2007, 2 (suppl 2), V28–V33.
- Holick M., Biancuzzo R.M., Chen T.C., Klein E.K., Young A., Bibuld D., Reitz R., Salameh W., Ameri A., Tannenbaum A.D., Vitamin D₂ is as effective as vitamin D₃ in maintaining circulating concentrations of 25-hydroxyvitamin D. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008, 93, 677–681.
- Holick M., Binkley N., Bischoff-Ferrari H., Gordon C.M., Hanley D.A., Heaney R.P., Murad M.H., Weaver C.M., Evaluation, treatment and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011, 96, 1911–1930.
- Ish-Shalom S., Segal E., Salganik T., Raz B., Bromberg I.L., Vieth R., 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, 3430–3435.
- Jean G., Souberbielle J.C., Chazot C., Strategy for vitamin D supplementation. Monthly cholecalciferol administration in hemodialysis patients : a simple and efficient strategy for vitamin D supplementation. *Nephrol Dial Transplant*, 2009, 24, 3799–3805.
- KDIGO. Clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Kidney Int*, 2009, 79, S1–S130.
- Kim M.J., Frankel A., Donaldson M., Darch S.J., Pusey C.D., Hill P.D., Mayr M., Tam F.W., Oral cholecalciferol decreases albuminuria and urinary TGF- β 1 in patients with type 2 diabetic nephropathy on established rennin-angiotensin-aldosterone system inhibition. *Kidney Int*, 2011, 80, 851–860.
- Lappe J.M., Travers-Gustafson D., Davies K.M., Recker R.R., Heaney R.P., Vitamin D and calcium supplementation reduces cancer risk: results of a randomized trial. *Am J Clin Nutr*, 2007, 85, 1586–1591.
- Lieben L., Masuyama R., Torrekens S., Van Looveren R., Schrooten J., Baatsen P., Lafage-Proust M.H., Dresselaers T., Feng J.Q., Bonewald L.F., Meyer M.B., Pike J.W., Bouillon R., Carmeliet G., Normocalcemia is maintained in mice under conditions of calcium malabsorption by vitamin D-induced inhibition of bone mineralization. *J Clin Invest*, 2012, 122, 1803–1815.
- Liu P.T., Stenger S., Li H., Wenzel L., Tan B.H., Krutzik S.R., Ochoa M.T., Schaubert J., Wu K., Meinken C., Kamen D.L., Wagner M., Bals R., Steinmeyer A., Zügel U., Gallo R.L., Eisenberg D., Hewison M., Hollis B.W., Adams J.S., Bloom B.R., Modlin R.L., Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science*, 2006, 311, 1770–1773.
- Looker A., Serum 25-hydroxyvitamin D and risk of major osteoporotic fractures in older US adults. *J Bone Miner Res*, 2013, 28, 997–1006.
- Lowe H., McMahon D.J., Rubin M., Bilezikian J.P., Silverberg S.J., Normocalcemic primary hyperparathyroidism : further characterization of a new clinical phenotype. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92, 3001–3005.
- Luxwolda M., Kuiperst R., Kema I., Dijck-Brouwer D.A., Muskiet F.A., Traditionnally living populations in East Africa have a mean serum 25-hydroxyvitamin D concentration of 115 nmol/L. *Brit J Nutr*, 2012, 108, 1557–1561.
- Mithal A., Wahl D.A., Bonjour J.P., Dawson-Hughes B., Eisman J.A., El-Hajj Fuleihan G., Josse R.G., Lips P., Morales-Torres J., Global vitamin D status and determinants of hypovitaminosis D. *Osteoporos Int*, 2009, 11, 1807–1820.
- Mitri J., Dawson-Hughes B., Hu F., Pittas A.G., Effects of vitamin D and calcium supplementation on pancreatic

- beta cell function, insulin sensitivity, and glycemia in adults at high risk of diabetes: the calcium and vitamin D for diabetes mellitus (CaDDM) randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*, 2011, 94, 486–494.
- Nemere I., Schwartz Z., Pedrosa H., Sylvia V.L., Dean D.D., Boyan B.D., Identification of a membrane receptor for 1,25-dihydroxyvitamin D₃ which mediates rapid activation of protein kinase C. *J Bone Miner Res*, 1998, 13, 1353–1359.
- Nimer A., Mouch A., Vitamin D improves viral response in hepatitis C genotype 2-3 naïve patients. *World J Gastroenterol*, 2012, 18, 800–805.
- Okazaki R., Sugimoto T., Kaji H., Fujii Y., Shiraki M., Inoue D., Endo I., Okano T., Hirota T., Kurahashi I., Matsumoto T., Vitamin D insufficiency defined by serum 25-hydroxyvitamin D and parathyroid hormone before and after oral vitamin D₃ supplementation load in Japanese patients. *J Bone Miner Metab*, 2011, 29, 103–110.
- Omenn G.S., Goodman G.E., Thomquist M.D., Balmes J., Cullen M.R., Glass A., Keogh J.P., Meyskens F.L., Valanis B., Williams J.H., Barnhart S., Hammar S., Effects of a combination of β -carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. *N Engl J Med*, 1996, 334, 1150–1155.
- Perez-Lopez F., Brincat M., Erel T., Trémollières F., Gambacciani M., Lambrinouadaki I., Moen M.H., Schenck-Gustafsson K., Vujovic S., Rozenberg S., Rees M., EMAS position statement : vitamin D and postmenopausal health. *Maturitas*, 2012, 71, 83–88.
- Pilz S., Tomaschitz A., Ritz E., Vitamin D status and arterial hypertension: a systematic review. *Nat Rev Cardiol*, 2009, 6, 621–630.
- Pilz S., Iodice S., Zittermann A., Grant W.B., Gandini S., Vitamin D status and mortality risk in CKD: a meta-analysis of prospective studies. *Am J Kidney Dis*, 2011, 58, 374–382.
- Poel Y.H.M., Hummel P., Lips P., Stam F., van der Ploeg T., Simsek S., Vitamin D and gestational diabetes : a systematic review and meta-analysis. *Eur J Intern Med*, 2012, 23, 465–469.
- Priemel M., von Demarus C., Klatte T.O., Kessler S., Schlie J., Meier S., Proksch N., Pastor F., Netter C., Streichert T., Püschel K., Amling M., Bone mineralization defects and vitamin D deficiency: histomorphometric analysis of iliac crest bone biopsies and circulating 25-hydroxyvitamin D in 675 patients. *J Bone Miner Res*, 2010, 25, 305–312.
- Rejnmark L., Avenell A., Masud T., Anderson F., Meyer H.E., Sanders K.M., Salovaara K., Cooper C., Smith H.E., Jacobs E.T., Torgerson D., Jackson R.D., Manson J.E., Brixen K., Mosekilde L., Robbins J.A., Francis R.M., Abrahamsen B., Vitamin D with calcium reduces mortality: patient level pooled analysis of 70 528 patients from eight major vitamin D trials. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97, 2670–2681.
- Rolighed L., Rejnmark L., Sikjaer T., Heickendorff L., Vestergaard P., Mosekilde L., Christiansen P. Vitamin D treatment in primary hyperparathyroidism: a randomized placebo controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014; doi: 10.1210/jc.2013-3978.
- Ross C., Manson J.E., Abrams S., Aloia J.F., Brannon P.M., Clinton S.K., Durazo-Arvizu R.A., Gallagher J.C., Gallo R.L., Jones G., Kovacs C.S., Mayne S.T., Rosen C.J., Shapses S.A., 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, 53–58.
- Sanders K.M., Stuart A.L., Williamson E.J., Simpson J.A., Kotowicz M.A., Young D., Nicholson G.C., Annual high-dose oral vitamin D and falls and fractures in older women: a randomized controlled trial. *JAMA*, 2010, 303, 1815–1822.
- Schleithoff S.S., Zittermann A., Tenderich G., Berthold H.K., Stehle P., Koerfer R., Vitamin D supplementation improves cytokine profiles in patients with congestive heart failure: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr*, 2006, 83, 754–759.
- Schlingmann K.P., Pirruccello J.P., Do R., Irwin A., Goos C., John U., Misselwitz J., Klaus G., Kuwertz-Bröking E., Fehrenbach H., Wingen A.M., Güran T., Hoenderop J.G., Bindels R.J., Prosser D.E., Jones G., Konrad M., Mutations in CYP24A1 and idiopathic infantile hypercalcemia. *N Engl J Med*, 2011, 365, 410–421.
- Smith H., Anderson F., Raphael H., Maslin P., Crozier S., Cooper C., Effect of annual intramuscular vitamin D on fracture risk in elderly men and women—a population-based, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Rheumatology (Oxford)*, 2007, 46, 1852–1857.
- Souberbielle J.C., Maury E., Friedlander G., Cormier C., Vitamin D and primary hyperparathyroidism (PHPT). *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2010, 121, 199–203.
- Stolzenberg-Solomon R.Z., Jacobs E.J., Arslan A.A., Qi D., Patel A.V., Helzlsouer K.J., Weinstein S.J., McCullough M.L., Purdue M.P., Shu X.O., Snyder K., Virtamo J., Wilkins L.R., Yu K., Zeleniuch-Jacquotte A., Zheng W., Albanes D., Cai Q., Harvey C., Hayes R., Clipp S., Horst R.L., Irish L., Koenig K., Le Marchand L., Kolonel L.N., Circulating 25-hydroxyvitamin D and risk of pancreatic cancer: cohort consortium vitamin D pooling project of rarer cancers. *Am J Epidemiol*, 2010, 172, 81–93.
- Tuohimaa P., Tenkanen L., Ahonen M., Lumme S., Jellum E., Hallmans G., Stattin P., Harvei S., Hakulinen T., Luostarinen T., Dillner J., Lehtinen M., Hakama M., Both high and low levels of blood vitamin D are associated with a higher prostate cancer risk: a longitudinal, nested case-control study in the Nordic countries. *Int J Cancer*, 2004, 108, 104–110.
- Urashima M., Segawa T., Okazaki M., Kurihara M., Wada Y., Ida H., Randomized trial of vitamin D supplementation to prevent seasonal influenza A in schoolchildren. *Am J Clin Nutr*, 2010, 91, 1255–1260.

- Vernay M., Sponga M., Salanave B., Oléko A., Deschamps V., Malon A., Castetbon K., Statut en vitamine D de la population adulte en France : l'étude nationale nutrition santé (ENNS, 2006-2007). *BEH* 24 avril 2012 : 189-194.
- 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, 575-579.
- Wepner F., Scheuer R., Schuetz-Wieser B., Machacek P., Pieler-Bruha E., Cross H.S., Hahne J., Friedrich M., Effects of vitamin D on patients with fibromyalgia syndrome: a randomized placebo-controlled trial. *Pain*, 2014, 155, 261-268.
- Witham M.D., Nadir M.A., Struthers A.D., Effect of vitamin D on blood pressure a systematic review and meta-analysis. *J Hypertens*, 2009, 27, 1948-1954.
- Zheng Y., Zhu J., Zhou M., Cui L., Yao W., Liu Y., Meta-analysis of long-term vitamin D supplementation on overall mortality. *Plos One*, 2013, 12, e82109.
- Zitterman A., Iodice S., Pilz S., Grant W.B., Bagnardi V., Gandini S., Vitamin D deficiency and mortality risk in the general population: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Am J Clin Nutr*, 2012, 95, 91-100.